

# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

## OBSAH ALERGENNÍCH VONNÝCH LÁTEK VE VYBRANÝCH TYPECH POTRAVIN

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

IVANA FIDRICOVÁ

BRNO 2010



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

## OBSAH ALERGENNÍCH VONNÝCH LÁTEK VE VYBRANÝCH TYPECH POTRAVIN

THE CONTENT OF ALLERGENIC AROMATIC COMPOUNDS IN CHOSEN FOOD TYPES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

IVANA FIDRICHOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. EVA VÍTOVÁ, Ph.D.

BRNO 2010



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

## Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	<b>FCH-BAK0397/2009</b>	Akademický rok: <b>2009/2010</b>
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	<b>Ivana Fidrichová</b>	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie (2901R021)	
Vedoucí práce	<b>Ing. Eva Vítová, Ph.D.</b>	
Konzultanti:	Ing. Radka Mokáňová	

### Název bakalářské práce:

Obsah alergenních vonných látek ve vybraných typech potravin

### Zadání bakalářské práce:

1. Zpracujte literární přehled o:
  - použití vonných látek rostlinného původu pro aromatizaci potravin
  - jejich možných biologických účincích v lidském organismu
2. Pomocí metody SPME-GC identifikujte a kvantifikujte alergenní vonné látky ve vybraných typech potravin
3. Zhodnoťte možné nežádoucí účinky

### Termín odevzdání bakalářské práce: 28.5.2010

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

-----  
Ivana Fidrichová  
Student(ka)

-----  
Ing. Eva Vítová, Ph.D.  
Vedoucí práce

-----  
doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2009

-----  
prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.  
Děkan fakulty

## **ABSTRAKT**

Táto práca popisuje vlastnosti, pôvod, použitie a metódy získania vonných látok rastlinného pôvodu, ktoré sú bežnou súčasťou potravinárskych výrobkov. Hoci aromatické látky nepatria k hlavnej skupine alergénov, v mnohých prípadoch je upozorňované na ich alergický potenciál. 26 najdôležitejších alergénnych vonných látok a obmedzenia s nimi súvisiace sú stanovené Európskou kozmetickou legislatívou. Pre potravinársky priemysel doposiaľ podobné nariadenie neexistuje.

Praktická časť bola venovaná identifikácii potenciálnych alergénnych vonných látok v náhodne vybraných potravinárskych produktoch.

## **ABSTRACT**

This thesis describes properties, origin, usage and methods of obtaining fragrances of vegetable origin, which are common part of food products. Although the aroma substances are not classified as the main group of allergens, in many cases there is a warning of their allergic potential. 26 crucial fragrance allergens and related restrictions are set by the European Cosmetic Regulations. There is no coincident regulation for food processing industry so far.

The practical part dealt with identification of potential allergenic fragrances in randomly selected food products.

## **KLÚČOVÉ SLOVÁ**

vonné látky, potraviny, SPME, GC

## **KEYWORDS**

aroma compounds, food, SPME, GC

FIDRICHOVÁ, I. *Obsah alergenních vonných látek ve vybraných typech potravin*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 67 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.

## PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracovala samostatne a že všetky použité literárne zdroje som správne a úplne citovala. Diplomová práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemické VUT v Brne a môže byť využitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho diplomovej práce a dekana FCH VUT.

.....  
podpis študentky

*Touto cestou by som rada poďakovala vedúcej mojej bakalárskej práce Ing. Eve Vítovej, Ph.D., Bc. Jitke Škopovej a Bc. Róbertovi Michalemu za cenné rady, podnetné pripomienky a pomoc pri vypracovaní tejto práce.*

# OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	TEORETICKÁ ČASŤ.....	8
2.1	História.....	8
2.2	Čuch .....	9
2.2.1	Ako funguje čuch .....	9
2.3	Vonné látky.....	11
2.3.1	Prírodné suroviny .....	11
2.3.1.1	Silice (Éterické oleje).....	18
2.3.1.2	Deterpenované silice.....	19
2.3.1.3	Olejopriskyryce .....	20
2.3.1.4	Výluhy.....	20
2.3.1.5	Ovocné a zeleninové šťavy a drene.....	21
2.3.1.6	Destiláty .....	21
2.3.2	Syntetické suroviny .....	21
2.4	Biologické účinky vonných látok .....	22
2.5	Legislatíva.....	23
2.5.1	Metódy predpisov.....	23
2.5.2	Medzinárodná situácia: JECFA .....	24
2.5.3	Rada Európy.....	24
2.5.4	Potenciálne alergénne aromaticky aktívne látky .....	26
2.5.4.1	2-benzylidenheptanal (INCI: Amyl cinnamal).....	28
2.5.4.2	2-benzylideneheptan-1-ol (INCI: Amylcinnamyl alcohol) .....	29
2.5.4.3	4-Methoxybenzyl alcohol (INCI: Anisyl alcohol) .....	30
2.5.4.4	Benzyl alkohol (INCI: Benzyl alcohol) .....	31
2.5.4.5	3-fenyl-2-propenal (INCI: Cinnamal).....	31
2.5.4.6	3,7-dimethyl-6-octen-1-ol (INCI: Citronellol).....	32
2.5.4.7	4-Allyl-2-methoxyphenol (INCI: Eugenol) .....	33
2.5.4.8	trans-3,7-dimethyl -2,6-oktadienol (INCI: Geraniol) .....	34
2.5.4.9	p-Mentha-1,8-diene (INCI: Limonene).....	35
2.6	Izolačné techniky.....	35
2.6.1	Kvapalinová extrakcia.....	36
2.6.1.1	Extrakcia pevných vzoriek .....	37
2.6.1.2	Extrakcia podľa Soxhleta .....	37
2.6.1.3	Urychlená extrakcia rozpúšťadlom .....	37
2.6.1.4	Superkritické extrakcie.....	37
2.6.1.5	Frakcionácia extraktov v rozpúšťadle.....	38
2.6.1.6	Koncentrácia extraktov v rozpúšťadle.....	38
2.6.1.7	Odparovanie vonných látok použitím rozpúšťadla .....	38
2.6.1.8	Destilácia vodnou parou .....	39
2.6.1.9	Headspace technika.....	40
2.6.1.10	Mikroextrakcia tuhou fázou .....	41
2.7	Plynová chromatografia .....	44

2.7.1	Nosný plyn .....	45
2.7.2	Dávkovanie vzoriek do plynového chromatografu .....	45
2.7.3	Chromatografické kolóny.....	46
2.7.4	Detektory .....	47
3	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ.....	49
3.1	Laboratórne vybavenie.....	49
3.1.1	Chemikálie.....	49
3.1.1.1	Štandardy vonných alergénnych látok .....	49
3.1.1.2	Rozpúšť'adlá.....	49
3.1.2	Plyny.....	49
3.1.3	Prístroje a pracovné pomôcky .....	49
3.2	Podmienky SPME-GC-FID.....	50
3.3	Reálne vzorky potravín .....	51
3.4	Pracovné postupy .....	52
3.4.1	Príprava vzoriek.....	52
3.4.2	Extrakcia aromaticky aktívnych látok.....	52
4	VÝSLEDKY A DISKUSIA .....	53
4.1	Identifikácia jednotlivých štandardov.....	53
4.2	Reálne vzorky .....	54
5	ZÁVER.....	56
6	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY .....	57
7	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV .....	61
8	ZOZNAM PRÍLOH.....	63
9	PRÍLOHY .....	64

# 1 ÚVOD

Vôňa a chuť sú významné faktory ovplyvňujúce rozhodovanie spotrebiteľa pri kúpe potraviny ako aj jeho vnímanie o jej kvalite. Za týmto účelom sa do potravín úmyselne pridávajú zlúčeniny, ktoré nie len zlepšujú organoleptické vlastnosti, ale taktiež môžu slúžiť ako náhrada drahších komponentov. Látky, ktoré zvyrazňujú a vylepšujú vôňu a chuť potravín a zároveň nie sú určené na samostatnú konzumáciu sa nazývajú arómy.

V dnešnej dobe trh ponúka veľké množstvo aromatizovaných výrobkov od žuvačiek, cukríkov, čajov až po nápoje a likéry. Všetky tieto produkty obsahujú aromatické vonné látky, ktoré majú na človeka množstvo pozitívnych, ale aj negatívnych účinkov. Jedným z nich je aj alergický potenciál, ktorý je témou tejto bakalárskej práce. Pridávanie potenciálnych alergénnych aromaticky aktívnych látok do potravín nie je legislatívne ošetrované (mimo kumarín), na rozdiel od kozmetických výrobkov, aj napriek tomu, že sa jedná o tie isté látky. Hoci aromatické látky nepatria k hlavnej skupine alergénov, mnohé štúdie upozorňujú na potenciálne riziko, ktoré predstavujú.

Cieľom tejto práce bolo charakterizovať vonné látky určené k aromatizácii potravín, vypracovať zoznam aróm, ktoré môžu mať alergénny účinok, opísať analytické metódy na stanovenie týchto látok a pomocou headspace mikroextrakcie tuhú fázou v spojení s plynovou chromatografiou identifikovať potenciálne alergény vo vybraných druhoch potravinárskych výrobkov.



## 2 TEORETICKÁ ČASŤ

Vôňa potravín je komplexným vnemom vyvolaným veľkým množstvom vonných látok, ich počet je odhadovaný na 10 000. V každej potravine býva bežne prítomných niekoľko stoviek rôznych vonných látok, z ktorých sa rada na vôni potraviny vôbec nepodiel'a, iné len veľmi málo a niektoré majú naopak veľmi veľký význam. Výslednú vôňu potom tvorí niekoľko týchto látok. [1]

Intenzita a kvalita vône rovnako aj chuti nezávisí len na prítomných vonných látkach, ale taktiež na ďalších zložkách potravín ako sú bielkoviny, sacharidy a lipidy, s ktorými vonné látky interagujú. Tieto neväzbové interakcie potom ovplyvňujú koncentráciu vonných látok v plynnej fáze. [1]

### 2.1 História

História používania vonných látok je stará ako ľudstvo samo. Už v období praveku naši predkovia našli potešenie z vône kvetín a zo zistenia, že po pridaní istých bylín do jedla si budú môcť svoj pokrm omnoho viac vychutnať. Kedy sa tak presne stalo sa už nikdy nedozvieme, ale práve od tohto bodu sme sa stali naozaj ľuďmi. [2]

Antický svet starovekého Grécka a Ríma poznal mnoho olejov, korení a parfumov. Bola vyvinutá časť kľúčových techník oddeľovania vonných látok, najmä destilácia a extrakcia. Vzostup Rímskej ríše spôsobil, že zásoby stredozemia sa stali dostupné privilegovaným. Korenie bolo používané pre jeho vlastnú chuť na ochutenie jedál alebo na prekrytie pochybnej chuti mäsa. [2]

Od začiatku 19. storočia bol zaznamenaný rozvoj chémie. Priemysel vo Veľkej Británii a v Nemecku začal vyrábať vonné a chuťové látky tak, ako ich poznáme dnes. Čistenie prírodných materiálov, predovšetkým silíc viedlo k identifikácii aromaticky aktívnych látok, ako benzaldehyd, cinamaldehyd a vanilín. Prehĺbenie vedomostí v oblasti organickej chémie znamenalo, že izolované látky mohli byť pripravené synteticky v laboratóriu. Od tohto okamihu udalosti a objavy nabrali rýchly spád. [2]

Po druhej svetovej vojne sa výroba vonných a chuťových látok výrazne rozšírila. Spôsobil to niekoľko vzájomne prepojených faktorov: [2]

- Technické faktory: [2]

- ✓ Analytické

Rozvoj analytických techník, ako Fourierova transformácia nukleárnej magnetickej rezonančnej spektroskopie (NMR), infračervená spektroskopia a najmä plynová chromatografia (GC) a hmotnostná spektrometria (MS) umožnili identifikovať kľúčové vonné látky z kvetín a potravín v čoraz nižších koncentráciách.

✓ Syntetické

Rozvoj syntetických postupov viedol k tomu, že na trhu sa objavilo veľké množstvo syntetických látok. Špecialistom to poskytlo zložitejšie materiály, za cenu ktorá bola síce vysoká, ale stále pridávala hodnotu výslednému produktu.

- Sociálne faktory [2]

Po skončení druhej svetovej vojny, predovšetkým od roku 1960, v rozvinutom svete, najmä v Severnej Amerike, západnej Európe a Japonsku, došlo k výraznému zvýšeniu životnej úrovne. Na trh prišli oveľa lepšie pripravené a spracované potraviny. Ľudia chcú a sú ochotní platiť za hotové jedlo, ktoré je vysoko-kvalitné a často krát rovnako dobré alebo lepšie než by ho oni sami dokázali pripraviť. Veľkú úlohu zohrali aj zdravotné faktory. Vegetariánstvo už nie je považované za „podivné“ a mnoho ľudí sa rozhodlo pre tento životný štýl. Tým došlo na trhu k nárastu vegetariánskeho jedla, ktoré nechutilo ako vegetariánske a zvýšil sa dopyt po pikantnej chuti pre rastlinné bielkoviny ako sója a mykoproteín.

Podobný posun nastal aj vo svete vôní. V roku 1960 vône pre osobnú starostlivosť boli o obmedzené na parfum pre dámy a vodu po holení pre pánov. Väčšina vybavenia domácnosti ako prostriedok na umývanie riadu, umývacie prostriedky, bielidlá, to všetko bolo neparfumované. Od nového tisícročia sa situácia obrátila a takmer všetko, čo môže, je voňajúce. Vôňa sa stala súčasťou nášho každodenného života.

## 2.2 Čuch

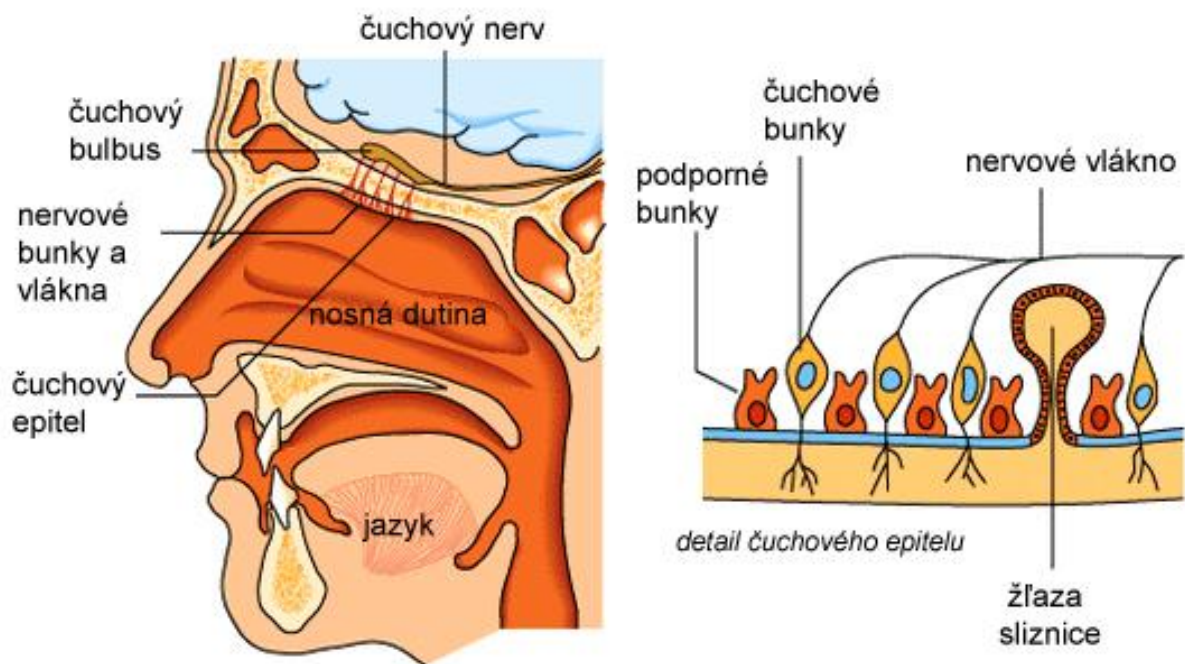
Čuch je najcitlivejším zmyslom ľudského tela. Rovnako ako chuť je chemickým zmyslom, ktorým neustále monitorujeme svoje okolie. Prostredníctvom čuchu sme pri dýchaní informovaní o aktuálnej kvalite okolitého ovzdušia a o prípadnom hroziacom nebezpečenstve. Čuch je tiež významnou súčasťou ďalšieho základného zmyslu, ktorým je chuť. [3,4]

### 2.2.1 Ako funguje čuch

Čuchové bunky sa nachádzajú hlboko v nosnej dutine v čuchovej výstelke nosovej sliznice. Ich počet sa odhaduje na 25 miliónov. Životnosť čuchovej bunky je približne 30 dní, potom je nahradená novou bunkou. Čuchové bunky vystupujú na povrch nosnej sliznice chránené chumáčikom drobných brv. [3]

V hĺbke sliznice vytvárajú čuchové bunky zo svojich vodivých výbežkov spleť, z ktorej vznikajú vlákna čuchového nervu. Ten vedie čuchový vnem do čuchového bulbusu a odtiaľ do čuchového centra mozgu na spodnej časti čelného laloku koncového mozgu. [4]

Vyhodnotenie vnemu je zložitý proces. Prenesený signál musí byť porovnaný s tým, čo už je uložené v pamäti, aby sme boli schopní povedať či je nám vôňa, čo práve cítime príjemná, alebo ktorá vôňa, z tých ktoré poznáme, je tomu čo cítime najviac podobná. [4]

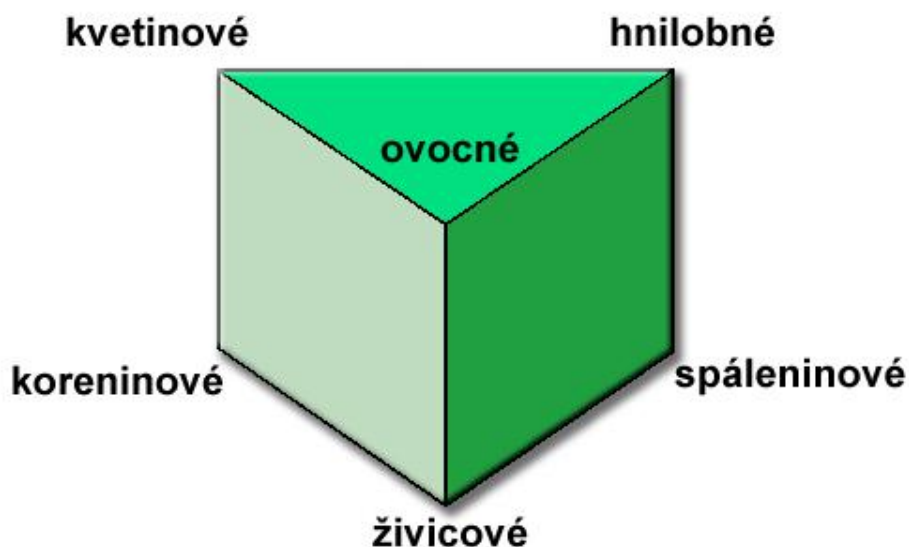


**Obrázok 1** Čuchové ústrojenstvo [5]

Adekvátnym podnetom pre čuch sú prchavé látky vo vdychovanom vzduchu. Človek dokáže rozlíšiť niekoľko tisíc čuchových kvalít, ale vône a zápachy ako podnety sa presne klasifikovať nedajú. Len asi 50 látok dáva tzv. čuchové pocity.

Rozdeľujú sa na vône (pachy): [6]

- koreninové
- kvetinové
- ovocné
- živicové
- hnilobné
- spáleninové



**Obrázok 2** Henningov hranol vôní [7]

Väčšina látok, ktoré voňajú alebo zapáchajú, vyvoláva zmiešané pocity, často kombinované s dráždením ďalších receptorov, najmä chuťových. Človek má v porovnaní s mnohými zvieratami čuch pomerne málo vyvinutý, no napriek tomu je jeho citlivosť dosť veľká. Význam čuchu pre človeka je pri vytváraní podmienene reflexného vylučovania tráviacich štiav a v obranných reakciách organizmu na dráždivé a škodlivé látky v ovzduší. [6]

## 2.3 Vonné látky

Vonné látky sú látky, ktoré pôsobia na čuchové receptory a vyvolávajú pocit vône. Ide o prchavé látky prevažne málo polárne alebo nepolárne vyvolávajúce širokú škálu najrôznejších senzorických vnemov. K aromatizácii sa používajú preto, aby udelili potravine vôňu, ktorú by inak nemala alebo nemala v dostatočnej intenzite. [1,8]

Vonné látky pre aromatizáciu potravín sa získavajú buď z prírodných materiálov (zo silíc, olejopryskyríc, výluhov, štiav, drení a destilátov) alebo sa vyrábajú synteticky. K najpoužívanejším vonným látkam patria benzaldehyd, citral, etyllaktát, etylvanilín, mentol, metylsalicylát, mravčan etylový, octan etylový a vanilín. [1,9]

### 2.3.1 Prírodné suroviny

Všetky aromatické látky v prírode produkujú živé organizmy, predovšetkým rastliny. Z približne 100 000 druhov rastlín, ktoré sú v súčasnosti popísané, asi 1700 druhov obsahuje silice. Pre praktické využitie má význam asi 200 druhov. [10]

K najdôležitejším vonným rastlinám patria:

- **Aníz** (*Bedrovník anízový* – *Pimpinella anisum* – *Daucaceae*)



**Obrázok 3** *Bedrovník anízový* [12]

Bedrovník anízový (**obrázok 3**) je jednoročná bylina. Jej domovom je Stredomorie a Malá Ázia. Bežne sa pestuje v teplých oblastiach južnej Európy. Patrí k najstarším známym koreňovým a liečivým rastlinám. V antickom svete bol bežne používaný ako omladzujúci prostriedok. Plody anízu sú všestranne použiteľným korením. V Európe sa aníz hojne používa ako korenie do koláčov a sušienok, na Strednom Východe a v Indii sa pridáva do polievok, dusených pokrmov a niekedy do chleba.

Olej zo semien vyhl'adávaajú v okolí Stredozemného mora na výrobu aperitívov a likérov. Vhodný je aj na ryby a kôrovce. Okrem toho sa destiláciou z nich vyrába príjemne po aníze voňajúca silica. [10, 11]

- **Badián** (*Badián pravý* – *Illicium verum* – *Illiciaceae*)

Badián pravý je vždy zelený strom, pochádzajúci z južnej Číny. Ako korenie sa už viac ako 3000 rokov používa jeho osemčipe hviezdicovité súplodie, ktoré má nahnedlú červenú farbu, typickú nasladlú korenitú vôňu aj chuť pripomínajúcu aníz. V kombinácii s korením, škoricou a zázvorom alebo klinčekom slúži k docieleniu rôznych variant orientálnych príchutí. Z plodov badiánu sa destiluje silica, ktorá svojou sladkou vôňou pripomína aníz. Je to preto, že obe silice obsahujú až 90 % anetholu. Z toho dôvodu, má badiánová silica obdobné použitie ako anízová silica. [10]

- **Bazalka** (*Bazalka pravá* – *Ocimum basilicum* – *Labiatae*)

Bazalka pravá je jednoročná bylina pochádzajúca z Indie. Celá rastlina príjemne vonia po klinčeku. Ako korenie sa dnes bežne používa najmä v juhoeurópskej, hlavne v talianskej kuchyni, napr. do známej polievky minestrý, ku koreneniu cestovín alebo náplní pizze. Z kvitnúcich stoniek bazalky sa destiluje jemne nažltla, sladko korenito voňajúca silica. [10]

- **Citrusy** (*Citrus aurantifolia*, *C. aurantium* subsp. *Bergamia*, *C. limonum*, *C. paradisi*, *C. reticulata*, *C. sinensis* - *Rutaceae*)

Citrusy sú teplomilné, subtropické až tropické vždyzelené dreviny, najčastejšie stromy. Citrusové silice sa najčastejšie vyrábajú lisovaním z oplodí plodov. Menej časté sú silice

destilované. Lisovaním sa vyrába najmä silica citrónová, pomarančová a mandarínková. Silice sa taktiež vyrábajú i z listov, mladých výhonkov a kvetov. V celosvetovej miere patria citrusové silice k najviac používaným. [10]

- **Eukalyptus** (*Blahovičník guľatoplodý* – *Eucalyptus globulus* - *Myrtaceae*)

Eukalypty sú mohutné, rýchlo rastúce stromy, vyskytujúce sa v desiatkach druhov. Z nich najrozšírenejší je blahovičník guľatoplodý. Z jeho dlhých, srpovitých listov sa destiluje bezfarebná až jemne nažltlá silica. Vonia sviežo a korenito kafrovo. [10]

- **Fenikel** (*Fenikel obyčajný* – *Foeniculum vulgare* – *Daucaceae*)



Fenikel (**obrázok 4**) je prevažne dvojročná rastlina. Má drobné, svetložlté kvety. Semená výrazne voňajú a sladko chutia. Používa sa v kuchyniach juhoeurópskych národov. Nepoužívajú sa len semená, ale aj listy. Niektoré pestované odrody sú vyšľachtené ako listová zelenina. Z plodov feniklu sa destiluje svetložltá až nazelenalá silica, typickej sladkej korenitej vône, pripomínajúca aníz. [10]

**Obrázok 4** Fenikel obyčajný [13]

- **Galgan** (*Alpinia lekárska* – *Alpinia officinarum*, *A. galanga* – *Zingiberaceae*)

Galgan je rastlina príbuzná zázvoru. Z podzemku vyrastajúca stonka má široko čiarkovité listy a biele kvety. Na korenenie sa používa podzemok najmenej z desať rokov starých rastlín. Je rozšírený najmä v indickej a indonézskej kuchyni. Galgan má podobnú chuť ako zmes d'umbiera a čierneho korenia, je trochu kyslastý s príchut'ou citrónu. Z podzemkov galgánu sa destiluje nažltlá, výrazne sviežo a kafrovo voňajúca silica. Galgan je podstatou thajských kari pást. V Rusku a Škandinávii sa používa pri výrobe horkých likérov a piva. [10, 11]

- **Kardamóm** (*Kardamovník obyčajný* – *Elettaria cardamomum* – *Zingiberaceae*)

Kardamovník je vytrvalá rastlina, blízko príbuzná zázvoru. Je jednou z najstarších korenín na svete a treťou najdrahšou. V Indii je druhou najdôležitejšou koreninou po čiernom korení. Ako korenie sa používajú semená kardamovníku – kardamóm. [10, 11]

- **Klinček** (*Klinčekovec voňavý* – *Syzygium aromaticum* – *Eugenia caryophyllata*)

Klinček voňavý je vždy zelený strom s polodlhými listami a ružovými kvetmi. Ako korenie sa používajú suché nerozvinuté puky. Tie sa potom sušia na slnku, až kým stratia 2/3 hmotnosti a zhnednú. Klinčky majú vyslovene záhadnú, príjemne hrejivú



arómu. Ich chuť je štiplavo ostrá až horká a zanecháva v ústach stŕpnutý pocit. Ich účinok sa zmierňuje varením. Obsahujú vysoké percento silice, hlavne eugenol. Klinček má veľmi široké uplatnenie pri príprave tak sladkých ako aj pikantných požívatín, pri výrobe džemov, zaváranín a tiež v údenárstve. V Indonézii ho pridávajú v 1/3 aj do cigariet. [10, 11]

- **Korenie** (*Piepor čierny – Piper nigrum – Piperaceae*)

Piepor čierny je lianovitá rastlina (**Obrázok 5**) s adventívnymi koreňmi, pomocou ktorých



**Obrázok 5** Piepor čierny [14]

sa zachycuje na opore. Suché nezrelé plody sú všeobecne známym korením – korenie čierne. Je to najpoužívanejšia korenina na Západe. Pochádza z monzúnových pralesov malabarského pobrežia v juhovýchodnej Indii. Všetky 3 druhy sú plodom ovíjaveho kra *Piper nigrum*. Zelené bobule sú nezrelé, čierne korenie sa fermentuje a suší zo zeleného a biele korenie je z úplne zreých červených bobúľ, ktoré sa máčajú vo vode a potom sa odstraňuje červená šupka. Pre výrobu silíc sa plody pieporu destilujú alebo extrahujú.

Destiláciou sa získava jemne nažltla silica s typickou korenitou vôňou. V súčasnosti sú hlavnými producentmi korenia India, Malajzia a Indonézia. [10, 11]

- **Koriander** (*Koriander siaty – Coriandrum sativum – Daucaceae*)

Koriander je jednoročná alebo dvojročná rastlina. Ako korenie sa používajú plody v niektorých krajinách aj listy. V Indii sú semená a listy základnou surovinou karí. V severnej Európe sa používa na dochutenie ginu a zložka zmesi na nakladanie zeleniny. Je obľúbený i v Španielsku, Portugalsku a v Amerike. Listy a nezrelé plody majú ostrú, nepríjemnú arómu. Zrelé plody majú sladkú, korenisto drevnatú arómu s balzamovým tónom. Ich chuť je mierna, sladká a mierne štiplavá s náznakom pomarančovej kôry. Obľúbený je v salámach, mletom mäse. Ochucujú sa ním aj francúzske zeleninové pokrmy. Z plodov koriandru sa destiluje jemne nažltla silica so sviežou a typicky linaloolovou vôňou. [10, 11]

- **Kôpor** (*Kôpor voňavý – Anethum graveolens – Daucaceae*)

Kôpor je jednoročná rastlina. Má jemne delené nitkovité listy a drobné žlté kvety. Pestoval sa už v staroveku pre semená aj pre vňať. Starí Egypťania zahánali kôprom bolesť hlavy, v starom Ríme kôpor užívali gladiátori na zvýšenie sily. Potierali si ním svaly pred zápasom. V dobe Karola Veľkého sa rozšíril po strednej Európe.

Kôpor pochádza z Orientu, z Iránu a prednej Indie. Semeno aj vňať obsahujú silice, kumaríny, flavonoidy, triesloviny a slizy. Vňať je bohatá na vitamín C. [10, 11]

- **Ligurček** (*Ligurček lekársky – Levisticum officinale – Daucaceae*)

Ligurček je trváca bylina. Má charakteristickú vôňu, pripomínajúcu zeler. Obsahuje éterické oleje, cukry a kyselinu archangelikovú. Je významným korením v likérnictve a konzervárenskom priemysle. [10, 11]

- **Majoránka** (*Majoránka záhradná – Majorana hortensis – Labiatae*)

Majoránka je jednoročná bylina. V staroveku bola považovaná skôr za liečivú rastlinu ako koreninu. Pripravoval sa z nej aj „nápoj lásky“. Dnes patrí medzi prvoradé bylinné koreniny. Pôvodom pochádza zo severnej Afriky, prednej Ázie a južnej Európy. Korenie tvoria sušené drvené listy a kvetenstvo. Dobre ošetrované korenie má sivozelenú farbu, tuhú arómu, príjemnú vôňu a trochu chladivú, horkastú chuť. Majorán obsahuje triesloviny, horké látky a silicu. Zelenožltá silica sa získava z nadzemnej časti rastliny destiláciou. Má jemne korenitú a drevitú vôňu. [10, 11]

- **Mäta** (*Mäta pieporná – Mentha piperita, M. roľná – M. arvensis, var. piperascens, M. kučeravá – M. crispa*)

Mäta je trváca bylina. Veľmi známa je predovšetkým ako čajová bylina, ale jej listy sú aj vynikajúcou koreninou. Rastlina obsahuje éterické oleje, triesloviny, horké látky a kyselinu chlorogénovú. Silice sa vyrábajú z kvitnúcich stoniek destiláciou vodnou parou. Silica z mäty piepornej má jemnú žltozelenú farbu, sviežu, výrazne mäťovú a súčasne balzamickú vôňu s typickým chladivým efektom. Silica je zdrojom prírodného mentolu. Používa sa aj v likérnictve a kozmetickej výrobe. Vedľa citrusových silíc patria mäťové silice k najpoužívanejším vonným látkam. [10, 11]

- **Muškrát** (*Muškrátovník voňavý – Myristica fragrans – Myristicaceae*)

Rastlina má výnimočné postavenie medzi koreninami, lebo poskytuje dve rozdielne koreniny: muškátový orech a muškátový kvet. Vždyzelený strom pochádza z ostrovov Banda v Molukách (Koreninové ostrovy). Rodí asi 40 rokov.

Orech je kôstka plodu. Číňania, Indovia a Arabi ho používali už v 6. storočí ako prostriedok na trávenie, pečeňové a kožné choroby a oba produkty považovali za afrodiziaka. Muškátový orech má intenzívnu, sviežu vôňu a korenisto-sladkastú chuť. Často sa používa v čínskej, indickej, arabskej a ázijskej kuchyni. Muškátový orech má široké použitie. Nadmerné dávky môžu byť osudné, pretože muškátová silica obsahuje jedovatý myristicin a elemicin.



Muškatový kvet je čipkovitý miešok, ktorý obaľuje orech. Má podobnú chuť ako muškátový orech, je však jemnejšia a väčšmi horká. Je to kombinácia škoric a čierneho korenie.

Muškatový orech aj kvet slúžia ako surovina pre získanie silíc. Ktoré sa vyrábajú destiláciou vodnou parou. Obe silice sú svetlej žltozelenej farby a majú výrazne korenitú, zreteľne muškátovú vôňu. [11, 14]

- **Nové korenie** (*Pimentovník pravý – Pimenta dioica – Myrtaceae*)

Pimentovník je asi 10 m vysoký, vždyzelený strom s bielymi kvetmi. Ako korenie sa používajú semená, ktoré vôňou pripomínajú klinček. Bobule nového korenia sú väčšie ako čierneho, oberajú sa ešte nezrelé a sušia sa na slnku, kým nezhnúdnú. Najlepšie nové korenie pochádza stále z Jamajky, aj keď sa pestuje taktiež v Severnej a Južnej Amerike. Má príjemnú vôňu a štiplavú chuť, ktorá súčasne pripomína korenisté zložky klinčekov, škoric, muškátu. Z nezrelých plodov pimentovníka, ale aj z jeho listov, sa vyrábajú dve od seba odlišné silice. Nové korenie má široké uplatnenie v potravinárskom priemysle pri výrobe kečupov, pri konzervovaní, výrobe džemov a sušienok. [10, 11]

- **Oregano** (*Pamajorán obyčajný – Origanum vulgare – Labiatae*)

Pamajorán obyčajný je trváca rastlina príbuzná majoránu. Jeho silná chuť vyniká, aj keď je sušené. Pestuje sa v Stredomorskej oblasti. Korenie poskytujú rezané alebo drvené výhonky červenkastej farby. Oregano je hlavnou pochutinou na pizzu. Obe byliny (oregano, majorán) sa objavujú v talianskej kuchyni v pokrmoch s rajčinovým základom. Oregano je obľúbené aj vo Francúzsku a Grécku. V Mexiku je zložkou práškoveho chilli. Z kvitnúcich stoniek pamajoránu sa destiluje červenohnedá silica, vôňou pripomínajúca tymian a majoránku. [10, 11]

- **Rasca** (*Rasca lúčna – Carum carvi – Daucaceae*)

Rasca patrí k najstarším koreniam. Používa sa takmer 5000 rokov. Pochádza z krajín ázijského mierneho pásma, rozšírená je aj v Európe a Severnej Amerike. Dnes je najobľúbenejšia v rakúskej a nemeckej kuchyni, kde ňou ochucujú chlieb a pečivo. Najväčším producentom semien rasce je Holandsko. Má štiplavú arómu, ktorá podobne ako jej chuť je „teplá“ a mierne horká. Z jej plodov sa vyrába jemne nažltla silica s typickou rascovou chuťou a vôňou. Rasca sa používa na dochutenie chleba, salám, kapusty, mäkkých syrov, klobásových výrobkov a pod. Známy je aj rascový likér. [10, 11]

- **Rozmarín** (*Rozmarín lekársky – Rosmarinus officinalis – Labiatae*)

Ako korenie sa používajú listy (prípadne celé konáriky) vždyzeleného polokra pôvodom z južnej Európy. Už v staroveku bol vysoko hodnoteným korením aj liečivou rastlinou. Má charakteristickú vôňu, mierne pripomínajúcu gáfor a horkú aromatickú chuť. Známy je rozmarínový ocot. Rozmarín obsahuje éterické oleje, saponíny, triesloviny. Z nezdrevnatených kvitnúcich stoniek sa destiluje jemne nažltla alebo bezfarebná silica s príjemnou bylinnou a kafrovou vôňou. [10, 11]

- **Šalvia** (*Šalvia lekárska – Salvia officinalis – Labiatae*)

Rastlina pochádza predovšetkým z krasového pobrežia Dalmácie. Už v stredoveku boli jej listy váženým korením a liečivou bylinou. V Oriente sa pridáva do aromatizovaných nápojov, do muškátových a vermutových vín. Listy a vňať obsahujú veľa trieslovín, živicu, horčinu a hlavne silicu s obsahom linaloolu, cedrenu a iných látok. Z nezdrevnatených, čiastočne suchých stoniek sa destiluje svetlo žltozelená silica so sladkou bylinnou vôňou a s výrazným kafrovým nádychom. [10, 11]

- **Škorica** (*Škoricovník cejlónsky – Cinnamomum verum, syn.: C. zeylanicum – Lauraceae*)

Škorica patrí medzi najstaršie koreniny. Prvá zmienka pochádza zo starej Číny. Škorica je sušená kôra škoricovníka. Pochádza zo Srí Lanky, kde sa produkuje najkvalitnejšia škorica. Zberá sa dvakrát do roka – na jar a jeseň. Najjemnejšia kôra pochádza z tenkých výhonkov v strede rastliny. Škoricové zvitky sa denne ručne šúľajú a sušia v tieni, kým nie sú správne suché, majú žltohnedú farbu a sú hladké. Škorica má sladkú, drevnatú a dosť lahodnú arómu. Destiláciou vodnou parou sa získavajú červenohnedo sfarbené, typicky škoricovo voňajúce silice. Extrakciou škorice sa vyrábajú olejopriskyryce. Okrem škoricovníku cejlónskeho sa pestuje aj škoricovník čínsky. Jeho použitie je podobné, a však vôňa jeho kôry nie je taká jemná. [10, 11]

- **Tymian** (*Tymian obyčajný – Thymus vulgaris – Labiatae*)

Tymian je vytrvalý poloker, rastie v západnej časti Stredomoria. Obsahuje tymol, triesloviny a iné látky. Korením sú stonky, ktoré sa zberajú tesne pred kvitnutím. Je veľmi aromatický a má horko-štipľavú chuť. Pestuje sa v Španielsku a Grécku. Vo Francúzsku je súčasťou polievkového korenia „bouquet garni“. Jeho použitie je pomerne široké. Z kvitnúcich stoniek tymianu sa destiluje biela alebo načervenalá až hnedočervená silica prenikavej, bylinnej vône. [10, 11]

- **Vanilka** (*Vanilka pravá – Vanilla planifolia – Orchidaceae*)

Vanilka je struk popínavej orchidey (10 – 15m). Pochádza z južného Mexika. Aztékovia si ňou ochucovali horúcu čokoládu. Tento zvyk sa rozšíril do celého sveta. Aztékovia boli tí, ktorí vyvinuli techniku konzervovania strukov opakovaným vlhčením a sušením, aby sa vytvoril kryštalický vanilín, ktorý jej dá typickú chuť. Najkvalitnejšia vanilka pochádza z ostrova Reunion, predáva sa pod názvom Bourbon a ešte stále patrí medzi najdrahšie koreniny. Vanilka má bohatú, lahodnú vonnú arómu podobnú tabaku a lahodnú voňavú sladkú chuť. Používa sa takmer na celom svete v sladkých pokrmoch, ale aj v pikantných omáčkach. [10, 11]

- **Vavrín** (*Vavrín pravý – Laurus nobilis – Lauraceae*)

Vavrín pravý, u nás známy ako bobkový list, patrí medzi najdávnejšie známe a veľmi rozšírené korenie. Korením sú listy kríka alebo stromu rastúceho v Stredomorí, v Malej Ázii a inde v subtropických podmienkach. V gréckej mytológii bol symbolom slávy a víťazstva. Listy majú charakteristickú korenistú vôňu a horkastú chuť. Ako korenina je známa v kuchyniach mnohých národov. Z listov a plodov vavrínu sa destiluje svetložltá silica výraznej, sviežej, korenitej vône. [10, 11]

- **Zeler** (*Zeler voňavý – Apium graveolens – Daucaceae*)

Zeler sa pestuje od 17. storočia. Zelerové semená sú drobné a hnedé s piatimi svetlejšími vystupujúcimi hrebeňmi; majú silnú zelerovú chuť a sú aromatické a mierne horké. Chuť je príjemná a mierna, horkosť zvyrazňuje ďalšie chute. Zelerové semená majú široké uplatnenie. Destiluje sa z nich žltá až svetlohnedá silica typickej, výraznej zelerovej vône. [10, 11]

### 2.3.1.1 Silice (Éterické oleje)

K najdôležitejším surovinám pre výrobu potravinárskych aróm patria silice. Jedná sa o prchavé, bezfarebné lipofilné látky, väčšinou kvapaliny. Silice sú zložitou zmesou zlúčenín, najmä monoterpenických uhlíkovodíkov, aldehydov, ketónov, kyselín, esterov, alkoholov, oxidov, fenolov či sekviterpénov. Ich ďalšou súčasťou môžu byť fenylypropanoidy a látky obsahujúce síru či dusík. Zdrojom vône sú spravidla terpenické látky. Získavajú sa z rôznych častí rastlín, ich kvetov (jasmín, ruža, ylang-ylang), stoniek (mäta, tymian), plodov alebo semien (rasca, badián), z plodov (citrón, pomaranč, vanilka), z dreva (santal, céder), z kôry (škorica), listov (bobkový list), koreňov (horec) alebo oddenkov (iris). [1, 16, 17, 18]

Silice sa získavajú tromi základnými spôsobmi:

- destiláciou
- extrakciou
- lisovaním

Destilácia vodou alebo vodnou parou sa používa k výrobe silíc zo semien, stoniek, listov, dreva, koreňov a živice. Po kondenzácii pár sa olej oddelí z vodnej fázy a následne je odstránený. Výťažok závisí na východiskovom rastlinnom materiáli a pohybuje sa od niekoľkých desiatín 1 % do niekoľko málo percent. [18, 19]

Extrakcia benzínom alebo petroletherom sa používa najčastejšie pri spracovaní kvetov. Po odparení rozpúšťadla z miscely zostane tzv. konkrétna silica alebo konkrét. Okrem vonných zložiek obsahuje ešte balastné látky, predovšetkým vosky. Tie sa oddelia tak, že sa konkrétna silica rozpustí v teplom liehu a vymrazí. Vosky sa vylúčia, odfiltrujú a z filtrátu sa odparí ethanol. Získa sa tak silica absolútna. [18]

Lisovanie je technológia ktorá sa uplatňuje pri výrobe kvalitných silíc z kôry citrusových plodov. Lisovanie je najčastejšie spojené s výrobou citrusových štiav. Triedené citrusové plody určitej veľkosti prichádzajú do zariadenia, kde každý plod zapadá do pologuľovitého ozubeného lôžka. Vylisovaná silica je oplachovaná vodou a následne odstredená. Po vylisovaní silice je šťava z plodov vysatá dutou ihlou pomocou vákua. [18]

#### **2.3.1.2 Deterpenované silice**

Väčšina silíc je v zriedenom ethanole zle rozpustná, čo je spôsobené prítomnosťou terpenických a seskviterpenických uhlíkovodíkov. Ich podiel v niektorých siliciach je značne vysoký. Terpenické uhlíkovodíky často spôsobujú zhoršenie kvality silíc, pretože sa na vzduchu veľmi ľahko oxidujú, prípadne polymerizujú. Preto pri mnohých arómach, pri ktorých je požadovaná zvlášť jemná vôňa, eventuálne aj chuť, sa používajú silice, ktoré sú buď z časti alebo úplne zbavené terpenických uhlíkovodíkov. Sú to silice deterpenované. [18]

Odstránením uhlíkovodíkov zo silíc sa získavajú koncentráty, ktoré sú mnohonásobne výdatnejšie než počiatočné produkty, stabilnejšie voči oxidačným procesom, lepšie rozpustné v liehu s nízkym obsahom ethanolu a je v nich zachovaný pôvodný senzorický charakter počiatočnej suroviny, Deterpenované silice sa používajú rôznymi spôsobmi, a to: [18]

- destilačným
- extrakčným
- adsorpčným
- kombinovanými postupmi

### 2.3.1.3 Olejopriskyrice

Olejopriskyrice, známe aj ako oleoresiny, sú extrakty získané z korenia či zeleniny organickými polárnymi (ethanol, methanol, izopropylalkohol), ale aj nepolárnymi (hexan, benzín, petrolether) rozpúšťadlami. Po odparení rozpúšťadla z miscely zostane olejopriskyrica. [1]

Pri výrobe olejopriskyrice sa rastlinný materiál najprv rozomelie, rozdrví alebo naseká na drobné častice s optimálnou veľkosťou. Potom sa extrahuje vhodným prchavým rozpúšťadlom buď kontinuálne alebo na barierovom extraktore. Z miscely sa rozpúšťadlo získa odparením, ku koncu odparovania sa používa vákuum. Ak ide o výrobu tekutých olejopriskyric, pridáva sa ku koncu odparovania vypočítané množstvo vybraného rozpúšťadla, s vysokou teplotou varu, ktoré spôsobí, že olejopriskyrica zostane aj po vychladnutí tekutá. Ak je potreba, posledné zvyšky extrakčného činidla sa vypudia dusíkom alebo oxidom uhličitým. [18]

Väčšina olejopriskyric obsahuje ako hlavnú zložku silice rovnako ako extrakty z korení. Prítomné sú však aj ďalšie zložky ako farbivá alebo štipľavé látky. Samotné oleoresiny sa používajú na výrobu potravinárskych aróm alebo ako náhrada prírodného korenia na ochutenie potravín. [1]

### 2.3.1.4 Výluhy

K výrobe aróm sa používajú rôzne výluhy (tinktúry, maceráty, výtlačky, perkoláty atď.) získané extrakciou počiatočného materiálu jemným rafinovaným liehom alebo inými prchavými organickými rozpúšťadlami. Vylúhovaný materiál bývajú drogy, čo sú sušené alebo inak k extrakcii upravené prírodné suroviny. Extrahuje sa taktiež ovocie, zelenina, výlisky, drene, šťavy, destiláty a pod. [18]

Extrakciu možno uskutočňovať za normálnej teploty (15 °C až 20 °C) staním s rozpúšťadlom, hovorí sa o macerácii alebo prietokom rozpúšťadla cez drogu, jedná sa o perkoláciu. Ak sa extrahuje za vyšších teplôt, hovorí sa o digescii. Liehový výluh, hlavne jedného druhu drogy, sa nazýva tinktúra. Výluh získaný ostatnými prchavými rozpúšťadlami sa pred odparením rozpúšťadla nazýva miscela. Po odparení rozpúšťadla ostáva rezinoid alebo olejopriskyrica alebo extrakt. Názov esencia sa používa pre liehové extrakty drog, dnes však skôr pre špeciálne komponované prípravky slúžiace k aromatizácii potravín, tzv. arómy. [1, 18]

Z hľadiska senzorickej akosti sa dáva prednosť výluhom vyrobeným maceráciou a perkoláciou. Ich vôňa a chuť sa viac blíži k extrahovanému prírodnému materiálu než vôňa a chuť extraktu získaného za tepla. Vyššie teploty počas extrakcie umožňujú urýchlenie celého procesu a získaný produkt má aj viac sušiny, avšak extrakt má hrubšiu chuť aj vôňu. [18]

Vyrobené tinktúry alebo iné výluhy sa majú uchovávať bez prístupu svetla alebo aspoň vo fľašiach z farebného skla, dobre uzavreté a pri nižších stálych teplotách. [18]

### **2.3.1.5 *Ovocné a zeleninové šťavy a drene***

Vynikajúcimi surovinami pre výrobu aróm na prírodnej báze sú šťavy (mušty) z ovocia a zeleniny. Môžu byť koncentrované alebo nezahustené. Z ovocných štiav sa bežne používa citrusová, jablková, hroznová, ríbezľová, višňová atď. Zahustená jablková šťava sa používa k výrobe iných aróm, napr. marhuľovej. Intenzívne zafarbené šťavy, ako napr. z čiernej ríbezli, sa používajú k farbeniu rôznych výrobkov. Zo zeleninových štiav sa používa mrkvová, kapustová, paradajková, cibuľová, cesnaková. Ovocné drene sa používajú k výrobe ovocných aromatických pást, zeleninové k príprave zeleninových a korenitých aromatických pást. [1, 18]

Pri výrobe aróm na báze prírodných štiav sa šťavy kombinujú s vhodným destilátom s liehovým roztokom silíc alebo roztokom aromatického komplexu. [18]

### **2.3.1.6 *Destiláty***

Medzi prírodné suroviny k výrobe aróm patria rôzne destiláty. Používajú sa buď ako hlavné aromatické komponenty dodávajúce aróme základný charakter alebo ako bonifikátory, ktoré len zaokrúhľujú a zjemňujú chuť a vôňu aromatického komplexu. Uplatňujú sa predovšetkým v prírodných menej výdatných arómach na výrobu alkoholických a nealkoholických nápojov, cukrárskych krémov, náplní a pod. K najčastejšie používaným destilátom patria ananásový, curaçaový, jahodový, kakaový, kávový, malinový, rumový, slivovicový, vinný a višňový. [18]

## **2.3.2 *Syntetické suroviny***

Najviac vonných a chuťových látok dnes používaných sa vyrába synteticky. Počet a sortiment syntetických vonných látok rastie a zdokonaľovaním technologických postupov sa zlepšuje ich kvalita. Doposiaľ bolo syntetizovaných okolo 10 000 vonných zlúčenín. V bežnej praxi sa používa okolo 2 000 vonných látok. Z nich asi 300 je všeobecne využívaných vo veľkých množstvách. [10,18]

Výroba niektorých klasických vonných látok je pomerne jednoduchá, avšak väčšina z nich je výsledkom zložitých, viacstupňových chemických syntéz. Je preto pochopiteľné, že vonné suroviny sú veľmi drahé. [18]

Delia sa na: [20]

- naturidentické – obsahujú látky, ktoré sa nachádzajú v prírode
- umelé – obsahujú látky v prírode doposiaľ nenájdene

## 2.4 Biologické účinky vonných látok

Už od praveku človek postupne spoznával vlastnosti vonných látok v aromatických a liečivých bylinách. Po období, v ktorom sa uprednostňovali biologicky aktívne látky vyrábané chemickými syntézami a kedy prírodné látky boli v úzadí, nastalo obdobie návratu k prírode. Intenzita výskumu biologických účinkov aromatických látok, ktoré nám príroda ponúka, výrazne vzrástla. Výrobcovia aromatických látok vytvorili medzinárodné organizácie a financujú ich výskum. Účinky aromatických látok na človeka pri vnútornej (perorálnej) aplikácii študuje v USA pracovisko organizácie FEMA (Flavor and Extract Manufacturers Association) a v Európe tzv. Európska rada – CoE (Council of Europe). Okrem toho používanie aromatických látok kontrolujú štátne zdravotnícke orgány vo všetkých vyspelých zemiach. Zloženie, výroba i používanie každej aromatickej látky musí byť v súlade s vydanými predpismi o cudzorodých látkach a v požívatinách alebo byť odsúhlasené ministerstvom zdravotníctva. [10]

Účinky aromatických látok na mikroorganizmy systematicky študujú lekárske, farmaceutické a ďalšie vedecké ústavy i výskumné pracoviská veľkých firiem vyrábajúcich vonné a chuťové látky. Pri farmaceutických výskumoch liečivých rastlín sa ukázalo, že hlavnou účinnou zložkou sú v nich obsiahnuté silice, respektíve niektoré zložky týchto silíc. [10]

Silice vykazujú účinky: [21]

- antimikrobiálne,
- antivírusové,
- antioxidačné,
- analgetické,
- tráviace,
- antikarcinogénne,
- semiochemické,
- ostatné

Nie všetky zložky silíc majú žiaduce aktivity. Niektoré látky sú dokonca toxické. Obsah týchto látok je preto v potravinách v mnohých zemiach legislatívne obmedzený. Safrol, rozšírený v rade silíc, je karcinogénny. Myristicin, obsiahnutý napr. v čiernom korení, vykazuje vo väčších dávkach narkotické a halucinogénne účinky. Thujon spôsobuje pri dlhodobom používaní poškodenie mozgovej kôry. Kumarín vykazuje hepatotoxické účinky. Zaujímavé je zistenie, že škodlivý vplyv niektorých vonných látok možno významne utlmiť pomocou iných vonných látok, obvykle tých, ktoré majú bolesť tlmiace alebo povzbudivé účinky. V tomto smere sa osvedčili niektoré terpény, napr. čisté pinény. [1,10,18]

## 2.5 Legislatíva

Arómy predstavujú skupinu potravinárskych aditívnych látok, ktorá má pomerne málo právnych predpisov. To je pravdepodobne spôsobené relatívne veľkým množstvom zložiek používaných v arómach, nízkou kvantitou a tým, že je ťažké regulovať prídavné látky, ktoré sú taktiež prirodzenou súčasťou potraviny, analytickými metódami. Odhaduje sa, že vo Veľkej Británii bolo asi pred 50 rokmi len 50 definovaných aromatických látok použitých vo väčšom množstve ako 50 kg/rok. Tieto údaje predstavujú priemernú spotrebu približne 1 mg na osobu za rok. V týchto množstvách je väčšina toxických prírodných látok, ako arzeniky a kyanidy, úplne neškodná. Jedna z charakteristík potravinových aditív všeobecne, a aromatických látok zvlášť, je nízky stupeň rizika, ktoré predstavujú pre spotrebiteľa aj napriek ich nevhodnosti. Okolo roku 1965, vnútroštátne regulačné orgány niekoľkých krajín, sa začali zaujímať o kontrolu aromatických látok v potravinách, napriek tomu, že nemali žiadny dôkaz o rizikách ich používania. Vedeli, že bez detailnej znalosti zloženia aromatických látok, budú vystavení kritike potravinových aktivistov. Spočiatku vládlo presvedčenie, že všetky potravinárske arómy by mali byť registrované a schválené príslušným orgánom, avšak predstaviteľom priemyslu chuťových látok sa podarilo presvedčiť legislatívne orgány, že by to bolo zbytočné a nepraktické. [22]

V súčasnej dobe je táto legislatíva uplatňovaná na národnej a medzinárodnej úrovni. Pozadie histórie tejto legislatívy je veľmi dôležité, pretože poukazuje na rozdielnosť systémov a spôsob ich zavedenia v rôznych krajinách. [22]

### 2.5.1 Metódy predpisov

Existujú v zásade dva základné spôsoby právnych predpisov: [22]

- **Pozitívny:** iba materiály, ktoré sú uvedené, môžu byť použité, s výnimkou všetkých ostatných. Tento druh právnych predpisov má nevýhodu v tom, že výskum nových materiálov je spomaľovaný požiadavkou na zverejnenie pred použitím, pokiaľ čas na zverejnenie nie je súčasťou regulácie. Regulačné orgány väčšinou preferujú pozitívny predpis pretože veria, že poskytuje spotrebiteľovi maximálnu ochranu a je relatívne jednoduchý pre kontrolu.
- **Negatívny:** Všetky materiály sú povolené okrem tých, ktoré sú v zozname. V tomto prípade potravinárska legislatíva musí byť doplnená o vyhlásenie, že žiadny z použitých materiálov nie je zdraviu škodlivý. To kladie zodpovednosť za bezpečnosť materiálov na výrobcov a väčšina národných zákonodarných orgánov na základe toho, nemá žiadnu kontrolu nad tým, čo sa používa. Systém podporuje výskum a vývoj nových materiálov s cieľom získať autentickejšie arómy pre celkový úžitok spotrebiteľa.

Vyššie uvedené systémy môžu byť kombinované tak, že niektoré skupiny materiálov sú kontrolované pozitívnymi predpismi, zatiaľ čo ostatné skupiny sú pokryté negatívnymi.



Tento systém sa používa v EÚ, hoci je postupne nahradzovaný pozitívnymi nariadeniami. Od roku 2000 bola väčšina výskumov nových aromatických látok pozastavená, z dôvodu hroziaceho uverejnenia pozitívnych predpisov, strate výrobného tajomstva a prehnaných nákladov na odstránenie toxikologických zložiek. [22]

### 2.5.2 Medzinárodná situácia: JECFA

JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) je Spoločný výbor Organizácie pre výživu a poľnohospodárstvo (FAO) a Odbornej komisie pre potravinárske aditíva, ktorá je súčasťou Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO). Bola vytvorená v roku 1956, aby sa zaoberala bezpečnosťou potravinových aditív. Dnes sa zaoberá aj kontaminantmi a rezíduami veterinárnych liekov v potravinách. JECFA slúži ako vedecký poradný orgán FAO, WHO a členských štátov Komisie Codex Alimentarius (CAC), najmä prostredníctvom Kódexového výboru pre potravinárske prídavné látky a kontaminanty (CCFAC), pokiaľ ide o bezpečnosť potravinárskych prídavných látok, vrátane aróm. JECFA doteraz zhodnotila 600 aromatických látok a čo je ešte dôležitejšie, poukázala na to, že mnohé aromatické látky sa používajú v tak malom množstve, že ich celkové zhodnotenie nemusí byť primerané. Činnosť JECFA má medzinárodný význam, vďaka tomu, že nie je ovplyvnená konkrétnou skupinou. Hodnotenie JECFA je akceptované FEXPAN (Expert Panel of the Flavor and Extract Manufacturers' Association of the United States) a Európskym úradom pre bezpečnosť potravín (EFSA) pri stanovení bezpečnosti aromatických látok pre USA a Európu. [22, 23]

### 2.5.3 Rada Európy

Rada Európy, konkrétne Working Party on Natural and Artificial Flavouring Substances, bola založená v roku 1965 ako pomocný orgán Sub-Committee on the Health Control of Foodstuffs. Činnosť vykonávaná touto skupinou nemala žiadny právny vplyv, ale bola dôležitá pre vytváranie legislatívy v EÚ. Počiatočné ciele Rady Európy boli: [22]

- vypracovať zoznam prírodných a umelých aróm, ktoré by mohli byť použité v potravinách bez nebezpečenstva pre verejné zdravie
- upozorniť na tie arómy, ktoré predstavujú nebezpečenstvo pre verejné zdravie

Vymedzenie pojmov ustanovených v nariadeniach (ES) č. 178/2002 a (ES) č. 1829/2003: [24]

- **Arómy** sú výrobky, ktoré:
  - ✓ nie sú určené na samostatnú konzumáciu, pridávajú sa do potraviny, aby sa jej dodala alebo zmenila vôňa a/alebo chuť
  - ✓ sú tvorené alebo pozostávajú z týchto kategórií: aromatické látky, aromatické prípravky, arómy získané tepelným procesom, dymové arómy, aromatické prekurzory alebo iné arómy alebo ich zmesi
- **Aromatická látka** je definovaná chemická látka s aromatickými vlastnosťami

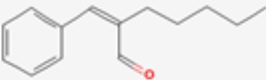
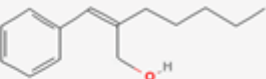
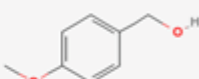
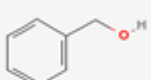
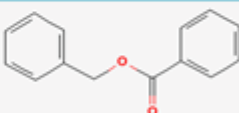
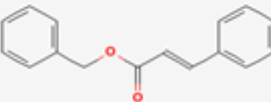
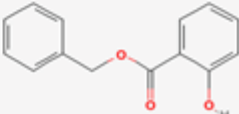
- **Prírodná aromatická látka** je aromatická látka získaná príslušnými fyzikálnymi, enzymatickými alebo mikrobiologickými procesmi z materiálu rastlinného, živočíšneho alebo mikrobiologického pôvodu buď v surovom stave, alebo po spracovaní na ľudskú spotrebu jedným alebo viacerými tradičnými postupmi prípravy potravín. Prírodné aromatické látky zodpovedajú látkam, ktoré sa prirodzene vyskytujú a ktoré boli identifikované v prírode
- **Aromatický prípravok** je iný výrobok ako aromatická látka, ktorý je získaný:
  - ✓ z potraviny príslušnými fyzikálnymi, enzymatickými alebo mikrobiologickými procesmi buď v surovom stave alebo po spracovaní na ľudskú spotrebu jedným alebo viacerými tradičnými postupmi prípravy potravín
  - ✓ a/alebo z materiálu rastlinného, živočíšneho alebo mikrobiologického pôvodu, ktorý nie je potravinou a ktorý bol získaný príslušnými fyzikálnymi, enzymatickými alebo mikrobiologickými procesmi, pričom sa materiál použil v pôvodnom stave alebo sa pripravil jedným alebo viacerými tradičnými postupmi prípravy potravín
- **Aróma získaná tepelným procesom** je výrobok získaný po tepelnom spracovaní zo zmesi zložiek, ktoré samotné nemusia mať nevyhnutne aromatické vlastnosti, z ktorých aspoň jedna obsahuje dusík (amín) a ďalšia je redukujúcim cukrom; zložkami na výrobu aróm môžu byť:
  - ✓ potravina
  - ✓ a/alebo iný východiskový materiál ako potravina
- **Dymová aróma** je výrobok získaný frakcionáciou a purifikáciou kondenzovaného dymu, ktorých výťažkom sú základné dymové kondenzáty, základné dechtové frakcie a/alebo derivované dymové arómy, ako je vymedzené v článku 3 bode 1, 2 a 4 nariadenia (ES) č. 2065/2003
- **Aromatický prekurzor** je výrobok, ktorý sám osebe nemusí mať nevyhnutne aromatické vlastnosti, úmyselne pridávaný do potravín s jediným cieľom vytvoriť arómu rozkladom alebo reakciou s inými zložkami v priebehu spracovania potravín; môže sa získať:
  - ✓ z potraviny
  - ✓ a/alebo z iného východiskového materiálu
- **Iná aróma** je aróma pridaná alebo určená na pridanie do potraviny s cieľom dodať vôňu a/alebo chuť, ktorá nepatrí do vymedzenia pojmov uvedených v predošlých bodoch
- **Potravinová zložka s aromatickými vlastnosťami** je potravinová zložka, ktorá nie je arómou a ktorú možno pridať do potraviny s hlavným cieľom dodať arómu alebo upraviť jej arómu, a ktorá vo významnej miere prispieva k prítomnosti určitých prirodzene sa vyskytujúcich nežiaducich látok v potravine
- **Východiskový materiál** je materiál rastlinného, živočíšneho, mikrobiologického alebo minerálneho pôvodu, z ktorého sa arómy alebo zložky potravín s aromatickými vlastnosťami vyrábajú; môže ním byť:

- ✓ potravina
- ✓ alebo iný východiskový materiál ako potravina

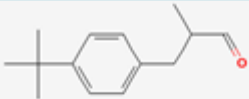
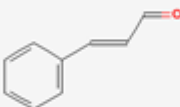
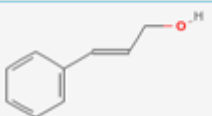
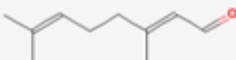
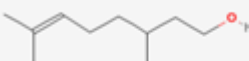
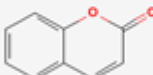
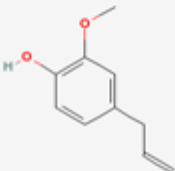
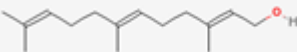

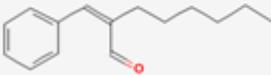
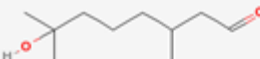
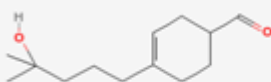
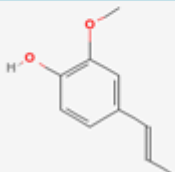
## 2.5.4 Potenciálne alergénne aromaticky aktívne látky

Vonné látky nie sú dôležité len pre potravinársky priemysel, ale bežne sa nachádzajú ako súčasť kozmetických výrobkov. Pre tento účel je využívaných asi 3000 chemických látok a esenciálnych olejov. Z dôvodu čoraz častejšie sa vyskytujúcej alergickej kontaktnej dermatitídy spojenej s používaním parfumových výrobkov, SCCNFP (Vedecký výbor pre kozmetické výrobky a nepotravinové produkty, dnes premenovaný na SCCPs, Vedecký výbor pre spotrebné produkty) vydal v roku 2003 zákon, ktorý stanovuje podmienky používania 26 vonných látok (*tabuľka 1*). Okrem dvoch prírodných machových extraktov, sú všetky zmienené látky prchavé. [25]

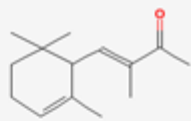
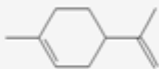

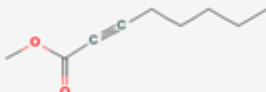
**Tabuľka 1:** Zoznam potenciálnych 26 alergénnych aromaticky aktívnych látok [26, 27, 28, 29, 30]

Názov podľa INCI	Číslo podľa CAS	Štruktúra
<b>Amyl cinnamal</b>	[122-40-7]	
<b>Amylcinnamyl alcohol</b>	[101-85-9]	
<b>Anisyl alcohol</b>	[105-13-5]	
<b>Benzyl alcohol</b>	[100-51-6]	
<b>Benzyl benzoate</b>	[120-51-4]	
<b>Benzyl cinnamate</b>	[103-41-3]	
<b>Benzyl salicylate</b>	[118-58-1]	

**Tabuľka 1:** Zoznam potenciálnych 26 alergénnych aromaticky aktívnych látok [26, 27, 28, 29, 30] – pokračovanie

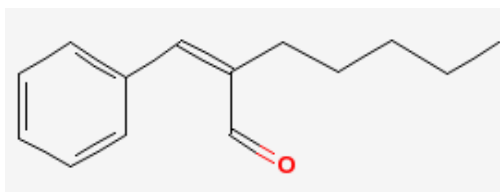
<b>Butylphenyl methylpropional</b>	[80-54-6]	
<b>Cinnamal</b>	[104-55-2]	
<b>Cinnamyl alcohol</b>	[104-54-1]	
<b>Citral</b>	[5392-40-5]	
<b>Citronellol</b>	[106-22-9]	
<b>Coumarin</b>	[91-64-5]	
<b>Eugenol</b>	[97-53-0]	
<b>Farnesol</b>	[106-28-5]	
<b>Geraniol</b>	[106-24-1]	
<b>Hexyl cinnamal</b>	[101-86-0]	
<b>Hydroxycitronellal</b>	[107-75-5]	
<b>Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde</b>	[31906-04-4]	
<b>Isoeugenol</b>	[97-54-1]	

**Tabuľka 1:** Zoznam 26 alergénnych aromaticky aktívnych látok [26, 27, 28, 29, 30] – pokračovanie

<b>Alpha-isomethyl ionone</b>	[127-51-5]	
<b>Limonene</b>	[5989-27-5]	
<b>Linalool</b>	[78-70-6]	
<b>Methyl 2-octynoate</b>	[111-12-6]	
<b>Evernia prunastri extract</b>	[90028-68-5]	Výťažok z konármiku slivkového, <i>Evernia prunastri</i> (Oakmoss extract)
<b>Evernia furfuracea extract</b>	[90028-67-4]	Výťažok z konármiku otrubového, <i>Evernia furfuracea</i> (Treemoss extract)

V nasledujúcich kapitolách sú podrobnejšie popísané vlastnosti vybraných alergénnych vonných látok, sledovaných v experimentálnej časti tejto práce.

#### 2.5.4.1 2-benzylidenheptanal (INCI: Amyl cinnamal)

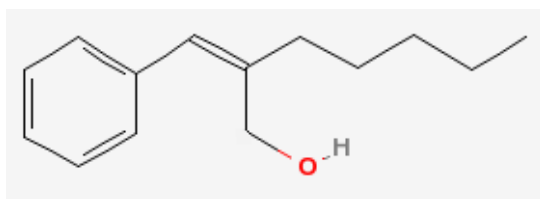


**Obrázok 6** Amyl cinnamal [30]

- aldehyd (**obrázok 6**)
- Molekulový vzorec:  $C_{11}H_{18}O$
- Molekulová hmotnosť:  $170,25 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
- Teplota varu:  $284\text{--}287^\circ\text{C}$
- Kód nebezpečnosti: Xi
- Synonymá:
  - ✓ A.C.A.
  - ✓ Amyl cinnamal
  - ✓  $\alpha$ -Amyl- $\beta$ -phenylacrolein

- ✓ Buxine
- ✓ Flomine
- ✓ Flosal
- ✓ Floxine
- ✓ Jasmine aldehyde
- ✓ Jasmonal
- ✓  $\alpha$ -Pentylcinnamaldehyde
- Popis: žltá kvapalina so silnou kvetinovou vôňou pripomínajúcou jazmín; rozpustný v olejoch, nerozpustný v glyceríne a propylénglykole; miesiteľný s ethanolom
- Výskyt: hoci amyl cinnamal sa prirodzene vyskytuje v niektorých rastlinách, v čiernom čaji, oilbanum, materiál, ktorý je súčasťou parfumov sa syntetizuje
- Balenie a skladovanie: v plných, pevných, najlepšie v sklených, hliníkových, oceľových alebo pocínovaných nádobách na chladnom tmavom mieste; veľmi ľahko oxiduje so vzdušným kyslíkom, preto musí byť chránený vhodným antioxidantom
- Použitie: ochucovadlo, používa sa pri výrobe cukríkov, pečiva, žuvačiek, v kozmetike pri výrobe produktov pre osobnú starostlivosť, výrobkov do kúpeľa, telových produktov, šampónov
- Toxikológia: LD50 (orálne, potkan) 3 730 mg·kg<sup>-1</sup>: mierne toxický pri požití; mierne dráždiaci kožu [30, 31, 32, 34]

#### 2.5.4.2 2-benzylideneheptan-1-ol (INCI: Amylcinnamyl alcohol)

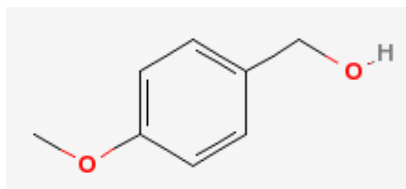


**Obrázok 7** Amylcinnamyl alcohol [30]

- alkohol (**obrázok 7**)
- Molekulový vzorec: C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>O
- Molekulová hmotnosť: 204,31 g·mol<sup>-1</sup>
- Teplota varu: 41 °C (5 mm Hg)
- Kód nebezpečnosti: Xi
- Synonymá:
  - ✓ n-Amylcinnamic alcohol
  - ✓ 2-Benzylideneheptanol
  - ✓  $\alpha$ -Pentylcinnamyl alcohol
- Popis: bezfarebná až slabo žltá kvapalina s ľahkou kvetinovou vôňou; nerozpustný vo vode; miešateľný s ethanolom
- Výskyt: syntetická zlúčenina

- Použitie: ochucovadlo, v kozmetike používaná ako vonná prísada v širokej škále produktov, vrátane výrobkov do kúpeľa, mydiel a saponátov, parfumov a kolínskych vôd, prípravkov pre starostlivosť o pleť a starostlivosť o vlasy [30, 32, 33]

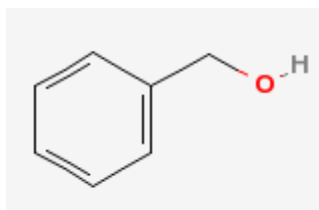
#### 2.5.4.3 4-Methoxybenzyl alcohol (INCI: Anisyl alcohol)



Obrázok 8 Anisyl alcohol [30]

- alkohol (**obrázok 8**)
- Molekulový vzorec:  $C_8H_{10}O_2$
- Molekulová hmotnosť:  $138,17 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
- Teplota varu:  $259 \text{ }^{\circ}\text{C}$
- Kód nebezpečnosti: Xi, Xn
- Synonymá:
  - ✓ anise alcohol
  - ✓ anisalalcohol
  - ✓ methoxybenzyl alcohol
  - ✓ benzenemethanol
  - ✓ 4-methoxybenzene methanol
  - ✓ p-anisol alcohol
  - ✓ p-methoxybenzyl;
- Popis: bezfarebná až mierne nažltla kvapalina alebo nepriehľadná kryštalická látka s mierne sladkou, kvetinovou vôňou; nerozpustný vo vode, zle rozpustný v glykoloch a glyceroloch, rozpustný v organických rozpúšťadlách, olejoch; s ethanolom miesiteľný nad  $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$
- Výskyt: prirodzene sa vyskytuje v rastline *Pimpinella anisum*, rajčinách a v mede, pripravuje sa taktiež synteticky
- Balenie a skladovanie: v plných, pevných, najlepšie sklenených alebo vhodne upravených nádobách na tmavých studených miestach, nepoužívať hliníkové nádoby
- Použitie: ochucovadlo, pri výrobe želatíny a pudingov, pečiva, mrazených mliečnych dezertov, nápojov a mäkkých cukríkov, v kozmetike vo výrobkoch pre osobnú starostlivosť a výrobkoch starostlivosti o pleť
- Toxikológia: LD50 (orálne, potkan)  $1\ 200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; mierne toxická pri požití, dráždi kožu [30, 31, 32, 33, 34]

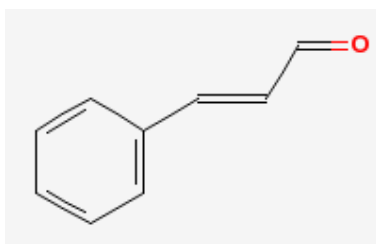
#### 2.5.4.4 Benzyl alkohol (INCI: Benzyl alcohol)



**Obrázok 9** Benzyl alkohol [30]

- alkohol (**obrázok 9**)
- Molekulový vzorec:  $C_7H_8O$
- Molekulová hmotnosť:  $108,14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
- Teplota varu:  $205 \text{ }^{\circ}\text{C}$
- Kód nebezpečnosti: Xn, T
- Synonymá:
  - ✓  $\alpha$ -Hydroxytoluene
  - ✓ Phenyl carbidol
  - ✓ Phenylmethanol
- Popis: bezfarebná kvapalina s mierne štiplavou, slabo aromatickou, ovocnou vôňou; ľahko sa rozpúšťa vo vode, v organických rozpúšťadlách a olejoch; s ethanolom miesiteľná pri izbovej teplote
- Výskyt: marhule, hovädzie mäso, pivo, mandle, jablko, jablkový džús, špargľa, banány, čierne ríbezle, černice, v syre Cheddar a kuracom mäse
- Balenie a skladovanie: v pevných nádobách
- Použitie: ochucovadlo, pri výrobe žuvačiek, cukríkov, mrazených mliečnych dezertov
- Toxikológia: LD50 (orálne, potkan)  $1\,230 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; pri požití toxický, dráždi kožu a oči [29, 30, 31, 32, 33]

#### 2.5.4.5 3-fenyl-2-propenal (INCI: Cinnamal)



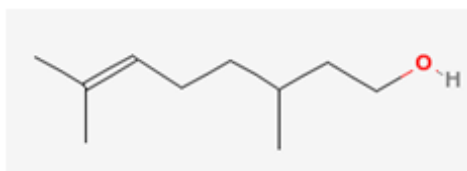
**Obrázok 10** Cinnamal [30]

- aldehyd (**obrázok 10**)
- Molekulový vzorec:  $C_9H_8O$



- Molekulová hmotnosť:  $132,16 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
- Teplota varu:  $248\text{-}250 \text{ }^{\circ}\text{C}$
- Kód nebezpečnosti: Xi
- Synonymá:
  - ✓ Benzylidene acetaldehyde
  - ✓ Cassia aldehyde
  - ✓ Cinnamaldehyde
  - ✓  $\beta$ -Phenylacrolein
  - ✓ Zimtaldehyde
- Popis: žltá kvapalina so silnou vôňou škorice, nerozpustná vo vode, dobre rozpustná v olejoch, s ethanolom miešateľná
- Výskyt: prirodzene sa nachádza v kôre stromov živice, je možné ju nájsť v pive, brandy, čučoriedkach, melóne, kapary, brusniciach, gine, guave, v oleji z citrónovej kôry, vo višniach, klinčekoch a škorici; cinnamaldehyd možno pripraviť aj synteticky
- Použitie: ochucovadlo, pri výrobe štiav, cukríkov, zmrzliny, mäsa, korenia, nápojov, pečiva, v kozmetike je súčasťou prípravkov pre osobnú starostlivosť, vody po holení, prípravkov do kúpeľa, zubných pást, rúžov, ústnych vôd a osviežovačov dychu
- Toxikológia: LD50 (orálne, potkan)  $2\,220 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; pri požití toxický, jemne toxický pri požití intraperitálnymi cestami, dráždi kožu [30, 31, 32, 33, 34]

#### 2.5.4.6 3,7-dimethyl-6-octen-1-ol (INCI: Citronellol)

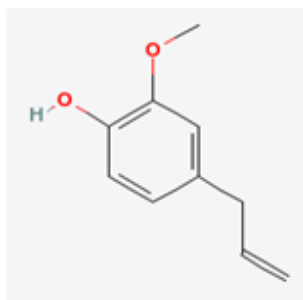


**Obrázok 11** Citronellol [30]

- alkohol (**obrázok 11**)
- Molekulový vzorec:  $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}$
- Molekulová hmotnosť:  $156,27 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
- Teplota varu:  $225 \text{ }^{\circ}\text{C}$
- Kód nebezpečnosti: Xi
- Synonymá:
  - ✓ Cephrol
  - ✓  $\beta$ -Citronellol
  - ✓ dihydrogeraniol
- Popis: bezfarebná olejovitá kvapalina s kvetinovou vôňou pripomínajúcou ruže
- Výskyt: v jablkách, marhuliach, čiernych ríbezliach, ostružine, pomarančovom džúze, čučoriedkach, mangu

- Balenie a skladovanie: v plných, pevných, najlepšie v sklenených alebo pocínovaných nádobách na chladnom tmavom mieste
- Použitie: ochucovadlo, používa sa pri príprave pečiva, mäkkých cukroviniek, mrazených mliečnych dezertov, žuvačiek a nápojov, v kozmetike má tiež široké zastúpenie, napríklad pri výrobe vody po holení, čistiacich prostriedkov, výrobkov starostlivosti o vlasy a pleť, rúžov, parfumov či kolínskych vôd
- Toxikológia: LD50 (orálne, potkan) 3 450 mg·kg<sup>-1</sup>; pri požití toxický, jemne toxický pri požití, dráždi kožu [30, 31, 32, 33, 34]

#### 2.5.4.7 4-Allyl-2-methoxyphenol (INCI: Eugenol)

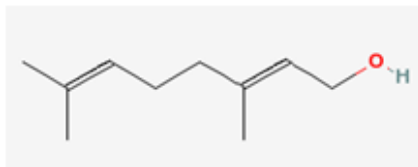


**Obrázok 12 Eugenol** [30]

- alkohol (**obrázok 12**)
- Molekulový vzorec: C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>
- Molekulová hmotnosť: 164,2 g·mol<sup>-1</sup>
- Teplota varu: 256 °C
- Kód nebezpečnosti: Xn
- Synonymá:
  - ✓ Allylguaiacol
  - ✓ 1-Hydroxy-2-methoxy-4-propenylbenzene
  - ✓ 2-Methoxy-4-allylphenol
- Popis: mliečna bezfarebná až žltkastá kvapalina s vôňou klinčekov, je nerozpustná vo vode, rozpustná v éteri, vo väčšine olejov a ethanol
- Výskyt: prirodzene sa vyskytuje v mnohých rastlinách, je možné ju nájsť v jablkách, marhuliach, v pive čiernych ríbezliach, ostružine, pomarančovom džúze, čučoriedkach, mangu
- Balenie a skladovanie: v plných, pevných, svetlu odolných nádobách na chladnom tmavom mieste
- Použitie: ochucovadlo, používa sa pri príprave pečiva, mäkkých cukroviniek, mrazených mliečnych dezertov, žuvačiek a nápojov, používa sa tiež pri výrobe vlasovej kozmetiky, zvlhčovačov, prípravkoch starostlivosti o pleť

- Toxikológia: LD50 (orálne, potkan) 3 450 mg·kg<sup>-1</sup>; pri požití toxický, jemne toxický pri požití, dráždi kožu [30, 31, 32, 33, 34]

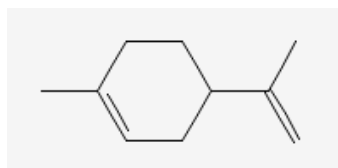
#### 2.5.4.8 *trans*-3,7-dimethyl -2,6-oktadienol (INCI: Geraniol)



**Obrázok 13** Geraniol [30]

- alkohol (**obrázok 13**)
- Molekulový vzorec: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O
- Molekulová hmotnosť: 154,25 g·mol<sup>-1</sup>
- Teplota varu: 230 °C
- Kód nebezpečnosti: Xi
- Synonymá:
  - ✓ *trans*-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol
  - ✓ 2,6-Dimethyl-2,6-octadien-8-ol
  - ✓ (E)-Geraniol
  - ✓ beta-Geraniol
  - ✓ Geranyl alcohol
  - ✓ Lemonol
  - ✓ (E)-Nerol
- Popis: bezfarebná kvapalina s vôňou ruže, je nerozpustný v glycerole, málo rozpustný vo vode, rozpustný vo väčšine olejov, propylénglykole a ethanole
- Výskyt: v jablkách, marhuliach, pive, čučoriedkach, čiernych ríbezliach, černiciach, škorici, kôpri, zázvore, hroznovom víne, kakau, mede, citrónoch a pomarančoch
- Balenie a skladovanie: v plných, pevných, najlepšie v sklenených alebo pocínovaných nádobách na chladnom tmavom mieste
- Použitie: pri výrobe pečiva, cukroviniek a zmrzliny, taktiež pri výrobe kozmetických prípravkov ako voda po holení, rúž, samoopaľovacích krémov, kolínskych vodách
- Toxikológia: LD50 (orálne, potkan) 3 600 mg·kg<sup>-1</sup>; pri požití toxický, jemne toxický pri požití a intramuskulárne [30, 31, 32, 33, 34]

#### 2.5.4.9 *p*-Mentha-1,8-diene (INCI: Limonene)



**Obrázok 14** Limonene [30]

- terpenický uhl'ovodík (**obrázok 14**)
- Molekulový vzorec:  $C_{10}H_{16}$
- Molekulová hmotnosť:  $136,24 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
- Teplota varu:  $175\text{-}177^\circ\text{C}$
- Kód nebezpečnosti: Xi, N
- Synonymá:
  - ✓ Hesperidine
  - ✓ 4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene
  - ✓ (+)-*p*-Mentha-1,8-diene
  - ✓ 1,8(9)-*p*-Menthadiene
- Popis: bezfarebná kvapalina so sviežou, jemnou, sladkou vôňou; limonen je nerozpustný vo vode, propylénglykole, mierne rozpustný v glycerole, rozpustný v olejoch a ethanole
- Výskyt: v citrusových plodoch
- Balenie a skladovanie: v plných, pevných, najlepšie v sklenených alebo pocínovaných nádobách na chladnom tmavom mieste
- Použitie: pri výrobe pečiva, mrazených mliečnych dezertoch, mäsových výrobkoch, mäkkých cukroviniek, korenia a nápojov
- Toxikológia: LD<sub>50</sub> (orálne, potkan)  $4\,400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; pri požití toxický, jemne toxický intraperitoneálne, dráždi kožu, má vplyv na reprodukciu a tumorogénny potenciál [30, 31, 32, 33, 34]

## 2.6 Izolačné techniky

Charakterizácia aromatických zlúčenín v prírodných produktoch a potravinách je stále výzvou, aj napriek dômyselným technikám, ktoré sú k dispozícii. Chuťové a vonné látky sú v maticiach prítomné vo veľmi nízkych koncentráciách (ppm alebo dokonca ppb, v číselnom vyjadrení  $10^{-6}$  –  $10^{-9}$ ). Matrice, ktoré tieto látky obsahujú, môžu byť veľmi zložité a spôsobiť interferencie s izolačnými technikami. Preto neexistuje žiadna jednotná, jednoduchá metóda pre identifikáciu aromatických zlúčenín. Pred začiatkom práce sa treba zamyslieť, čo sa chce dosiahnuť s analýzou a potom až vybrať analytické metódy alebo kombinácie metód, ktoré by mohli fungovať najlepšie. Typickým cieľom je získanie

celkového aromatického profilu vzorky, hľadanie konkrétnej zlúčeniny alebo porovnávanie vzoriek. [2]

Vo všeobecnosti môžeme používané izolačné metódy rozdeliť na: [2]

- extrakčné metódy
- destilačné metódy
- metóda headspace
- sorpčné metódy

### 2.6.1 Kvapalinová extrakcia

Tento pojem zahŕňa prevod aromatických chemických látok zo vzorky do organického rozpúšťadla. Extrakt sa získava zmiešavaním a premiešavaním kvapalnej alebo tuhej vzorky s organickým rozpúšťadlom, ktoré umožňuje oddelenie a zisk rozpustenej fázy. Extrakcia sa môže vykonať manuálne alebo automaticky, po dávkach alebo kontinuálne. Výsledný extrakt by mal mať rovnaké alebo veľmi podobné senzorické vlastnosti ako pôvodná vzorka. [2]

Výber rozpúšťadla je veľmi dôležitý a musí spĺňať určité kritéria. Musí mať nízky bod varu, aby mohol byť jednoducho odstránený z extraktu bez značných strát prchavých látok a aby neprekryval ostatné zložky počas chromatografie. Musí byť schopný extrahovať polárne i nepochárne komponenty. Medzi najpoužívanéjšie rozpúšťadlá patria: [2]

- dichlormethan ( $t_v = 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
- diethyl éter ( $t_v = 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
- freóny ( $t_v < 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
- hexan ( $t_v = 69\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
- ethanol ( $t_v = 78\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
- acetón ( $t_v = 56\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

Výhody: [2]

- kvalita a množstvo získaných arómatov
- jednoduchosť

Nevýhody: [2]

- odstránenie rozpúšťadla môže spôsobiť stratu jednej alebo viacerých prchavých zložiek
- použité rozpúšťadlo môže byť toxické a/alebo horľavé a môže spôsobiť kontamináciu
- potreba veľkého množstva vzorky na prípravu silného extraktu
- získaný extrakt môže obsahovať materiály neprchavé, farbiace alebo materiály s vysokým bodom varu, ktoré môžu spôsobiť problémy pri chromatografickej analýze

- v priebehu extrakcie sa môže formovať emulzia
- v chromatograme môže pík rozpúšťadla prekryť iné prchavé látky

#### **2.6.1.1 Extrakcia pevných vzoriek**

Pokiaľ je vzorka pevného skupenstva, môže byť extrahovaná tak ako je alebo sa rozpustí vo vode a je extrahovaná ako kvapalná vzorka. Ak je vzorka extrahovaná tak ako je (čo sa často týka pevných potravín), je možné ju namočiť do rozpúšťadla na stanovenú dobu. Následne je rozpúšťadlo dekantované, prefiltrované a extrakt sa skoncentruje. V prípade použitia kapsulovaných vzoriek je vhodné použiť vodu na uvoľnenie arómy pred pridaním rozpúšťadla. [2]

#### **2.6.1.2 Extrakcia podľa Soxhleta**

Soxletova extrakcia je kontinuálna extrakčná metóda, ktorá sa používa pre pevné, polopevné a viskózne vzorky. Vzorka je umiestnená v pórovitej patrône a nepretržite sa extrahuje po dobu niekoľkých hodín. To umožňuje rozpúšťadlu s nízkou teplotou varu, aby ňou preniklo. V súčasnej dobe je na trhu dostupná automatizovaná verzia Soxhleta, ktorá umožňuje extrahovať koncentrát zo vzorky v jednom kroku. Polopevné a viskózne vzorky musia byť zmiešané s pevnými podpornými látkami, ako napr. síran sodný alebo síran horečnatý, ktoré absorbujú vodu a tým vznikne pevná vzorka. Nevýhodou tejto metódy je prítomnosť neprchavých zložiek, hlavne tukov, vo výslednom extrakte. [2]

#### **2.6.1.3 Urýchlená extrakcia rozpúšťadlom**

Urychlená extrakcia rozpúšťadlom je metóda, ktorá je často používaná na extrakciu pevných a polopevných látok. Vzorka je zabalená do tlako-tesných buniek, zaplnených rozpúšťadlom a vystavených zvýšenej teplote a tlaku. Z bunky je extrakt vytlačený pomocou plynného dusíku do záchytnej banky. Rovnako, ako pri extrakcii podľa Soxhleta, musia byť polopevné vzorky zmiešané s podpornými látkami. Typické rozpúšťadlá použité pri tejto metóde sú metanol, izopropylalkohol, hexan a voda. [2]

Výhodou tejto metódy je, že využíva relatívne malé množstvo rozpúšťadla a extrakčné časy môžu byť krátke až 15 min. Nevýhodou metódy je, že veľmi prchavé látky sa môžu stratiť extrakciou pri zvýšenej teplote. Počas prechodu z bunky do záchytnej banky sa môže stať, že sa vytvorí zrazenina, ktorá zamedzí transportu. [2]

#### **2.6.1.4 Superkritické extrakcie**

Jednou z najviac inovatívnych metód extrakcie rozpúšťadlom je superkritická extrakcia, pri ktorej sú ako rozpúšťadlo používané superkritické tekutiny, napr. oxid uhličitý. Zmenou tlaku v priebehu extrakcie môže byť upravovaná sila extrakcie. Tento fakt sa uplatňuje najlepšie pri sušinách a viskózných kvapalinách. Metóda je účinná pri získaní

vôní z výrobkov s vysokým bodom varu ako sú kondicionéry a šampóny. Aj pri tejto metóde musí byť kvapalina zmiešaná s pevnou podporou a zabalená do extrakčných buniek. Bunky sú stlačené a extrahované so superkritickou kvapalinou a získaný extrakt je zachytávaný do baniek. [2]

Výhodou tejto metódy je použitie netoxických rozpúšťadiel, selektivita extrakcie, krátke extrakčné časy a nízky počet teplotne nestálych reakcií a reakcií citlivých na kyslík. Hlavný problém s prístrojom je jeho upchatie extrakčným materiálom. Superkritické rozpúšťadlá majú tendenciu utláčať polárne zložky. Tento problém možno odstrániť pridaním methanolu alebo ethanolu. Ďalšou nevýhodou sú ťažkosti pri vyrovnávaní teploty, tlaku a prietoku pre každý typ vzorky. Z tohto dôvodu je metóda časovo náročná. [2]

#### **2.6.1.5 Frakcionácia extraktov v rozpúšťadle**

Výtázky získané extrakciou rozpúšťadlom, a to najmä tie z prírodných produktov, môžu byť veľmi zložité a chromatogram GC môže obsahovať veľa prchavých zlúčenín, ktoré robia identifikáciu jednotlivých aromatických zlúčenín obtiažnou. Jedným spôsobom, ktorým možno prekonať tento problém, je frakcionácia extraktu. Tú možno vykonať niekoľkými spôsobmi: premývaním extraktu so zriedenou kyselinou, zriedenou zásadou a to buď metabisulfidom sodným alebo 2,4-dinitrofenylhydrazínom, čo môže viesť k odstráneniu kyseliny, zásady, respektíve karbonylových zlúčenín v extrakte. Frakcionácia extraktov v rozpúšťadle môže byť časovo náročná a môže spôsobiť stratu niektorých prchavých zlúčenín. [2]

#### **2.6.1.6 Koncentrácia extraktov v rozpúšťadle**

Extraktory alebo kombinované extraktory sú zvyčajne sušené bezvodým síranom sodným alebo síranom horečnatým, aby sa odstránila všetka voda, a prefiltrované. V tejto fáze je koncentrácia prchavých zložiek v extrakte príliš nízka na okamžitú analýzu, a preto je potrebné odstrániť väčšinu rozpúšťadiel. Počiatočná koncentrácia extraktu (až do 10 – 15 ml) môže byť vykonaná nasledujúcimi technikami: destilačnou kolónou Vigreux, rotačným odparovaním, Kuderna – Danishovým koncentrátorom. Je dôležité poznamenať, že extrakt musí byť koncentrovaný s veľkou opatrnosťou, pretože niekoľko hodinová práca môže byť zničená v priebehu jednej sekundy. Tento prípad môže nastať ak je príliš rýchlo zredukované množstvo rozpúšťadla, čo vedie k strate dôležitých prchavých zložiek. [2]

#### **2.6.1.7 Odparovanie vonných látok použitím rozpúšťadla**

*(Solvent assisted flavour evaporation – SAFE)*

Na odstránenie niektorých nevýhod extrakčných techník použitím rozpúšťadla môže byť využitá metóda SAFE. Táto metóda sa zároveň uplatňuje ako samostatná extrakčná technika pre tekuté potraviny, ako mlieko, ovocné drene či matrice s vysokým obsahom olejov.

Z extraktu v rozpúšťadle alebo z potravinovej matrice sa získavajú prchavé látky pomocou nízkej teploty pri vysokom vákuu. Extrakt je zachytávaný v bankách, ktoré sú kryogenicky schladené tekutým dusíkom. Výsledný extrakt by mal reprezentovať pôvodnú vzorku bez farby a látok s vysokým bodom varu. Nevýhodou SAFE je zložitosť aparatury a časovo náročné čistenie. [2]

#### **2.6.1.8 Destilácia vodnou parou**

Destilačné metódy zahŕňajú jednoduchú destiláciu vodnou parou, pri ktorej vzniká vodný extrakt, ktorý je následne extrahovaný organickým rozpúšťadlom a zároveň simultánne destilačno-extrakčné metódy (SDE), ktorých výsledný produkt je extrakt z rozpúšťadla. Hlavnou výhodou tejto metódy je to, že výsledný extrakt neobsahuje žiadne neprchavé látky. [2]

Pri jednoduchej destilácii vodnou parou je vzorka dispergovaná vo vode a umiestnená do okrúhlej banky, ktorá je priamo alebo nepriamo zahrievaná vodnou parou. Para je kondenzovaná, zachytená a extrahovaná organickými rozpúšťadlami. [2]

SDE je známa aj ako Likens-Nickersonova destilácia vodnou parou. Pri štandardnom rozložení aparatury je vzorka pridaná do destilovanej vody v banke s okrúhlym dnom a konštantne miešaná aby sa zabránilo búrlivému varu. Menšia banka je napustená rozpúšťadlom (dichlormethan alebo freón) a obe banky sú súčasne zahrievané. Vzorka je zahriata na 100 °C a rozpúšťadlo na svoj bod varu. Para vzniká v oboch častiach aparatury, centrálné sa kombinuje a prchavé látky sú prenášané medzi kondenzovanými kvapalinami. Voda a rozpúšťadlo sa vracajú naspäť do svojich baniek v kontinuálnom procese extrakcie. Extrakčný čas závisí od matice, zvyčajne okolo 2 – 4 hodín. [2]

Výhody: [2]

- extrakt neobsahuje neprchavé látky a látky s vysokým bodom varu, čiže nevzniká riziku ovplyvnenia výsledku GC

Nevýhody: [2]

- vysoko polárne a hydrofilné látky, ako kyseliny a alkoholy, sú extrahované v malých množstvách a niekedy sa vo finálnom extrakte nevyskytujú
- metóda nie je vhodná pre čerstvé materiály, ktoré neboli tepelne upravené, ako napr. ovocie, zelenina, pretože aróma výsledného extraktu je viac podobná uvarenému ovociu/zelenine než čerstvej potravine.
- menej kvantitatívna metóda ako extrakcia pomocou rozpúšťadiel
- musia byť pridané zložky zabraňujúce speňovaniu, ktoré môžu spôsobiť kontamináciu kremíkom



### **2.6.1.9 Headspace technika**

Kolekcia metódou headspace je najjednoduchšou metódou získania vonných látok zo vzorky. Je jednoduchá, výhodná a použiteľná pre všetky typy materiálov. Je vhodná pre vzorky s vysokým obsahom vonných látok, ako sú kvety a ovocie. Vzorky, ktoré neobsahujú dostatočné množstvo vonných látok sa prípadne zahrievajú, aby sa uvoľnilo väčšie množstvo vône. Headspace technika dokáže detegovať vysoko prchavé látky a tým môže pomôcť identifikovať komponenty, ktoré sú skryté za píkmi rozpúšťadla. [2]

Výhody: [2]

- jednoduchosť a rýchlosť
- bez použitia rozpúšťadla
- vyžaduje malé množstvo vzorky
- nevytvárajú sa žiadne artefakty
- pri správnom použití nedochádza ku kontaminácií

Nevýhody: [2]

- koncentrácia vzorky nezávisí na relatívnej koncentrácii komponentov v headspace, z dôvodu rozdielu prchavosti aromatických látok
- aromatický profil je závislý na teplote, ktorá je v čase odberu vzorky

Headspace technika zahŕňa statickú a dynamickú metódu. [2]

#### ***Statická headspace metóda:***

Statická headspace je technika používaná na analýzu koncentrácie prchavých organických látok. Táto metóda analyzuje presne to, čo prijímajú čuchové receptory. Headspace je plynná fáza nad kvapalinou alebo pevná látka vo vialke uzavretá septom. Prchavé látky sa rozptýlia v plynnej fáze v koncentráciách odpovedajúcich ich tlaku pár. [2,22,35, 36]

Pokiaľ sa potravina vloží do uzavretej vialky, prchavé látky sa rozptýlia v headspace okolo nej. Ako náhle koncentrácia týchto látok dosiahne približne 1 ppm, môže byť analyzovaná odobratím pomernej časti plynu z vialky, ktorý je vstreknutý do plynového chromatogramu. Koncentrácia headspace závisí na rôznych faktoroch ako je koncentrácia pôvodnej vzorky, rozpustnosť, prchavosť, teplota vzorky a kombinácia veľkosti vialky a času, počas ktorého bola vzorka vo vialke umiestnená. [36]

Statická headspace je užitočná pre analýzu veľmi prchavých látok. Limity detekcie požadujú určité množstvo látok v headspace, a preto musí byť vzorka v niektorých prípadoch zahriata na 60 – 100 °C. Zvýšenie teploty môže spôsobiť nereálny obraz prchavých látok vo vzorke, čo je zapríčinené tvorbou nových aromatických látok alebo skreslením kvantitatívneho

zloženia. Statická headspace je veľmi rýchla metóda, ktorá však neposkytuje ucelenú analýzu prchavých látok. [36]

### ***Dynamická headspace metóda***

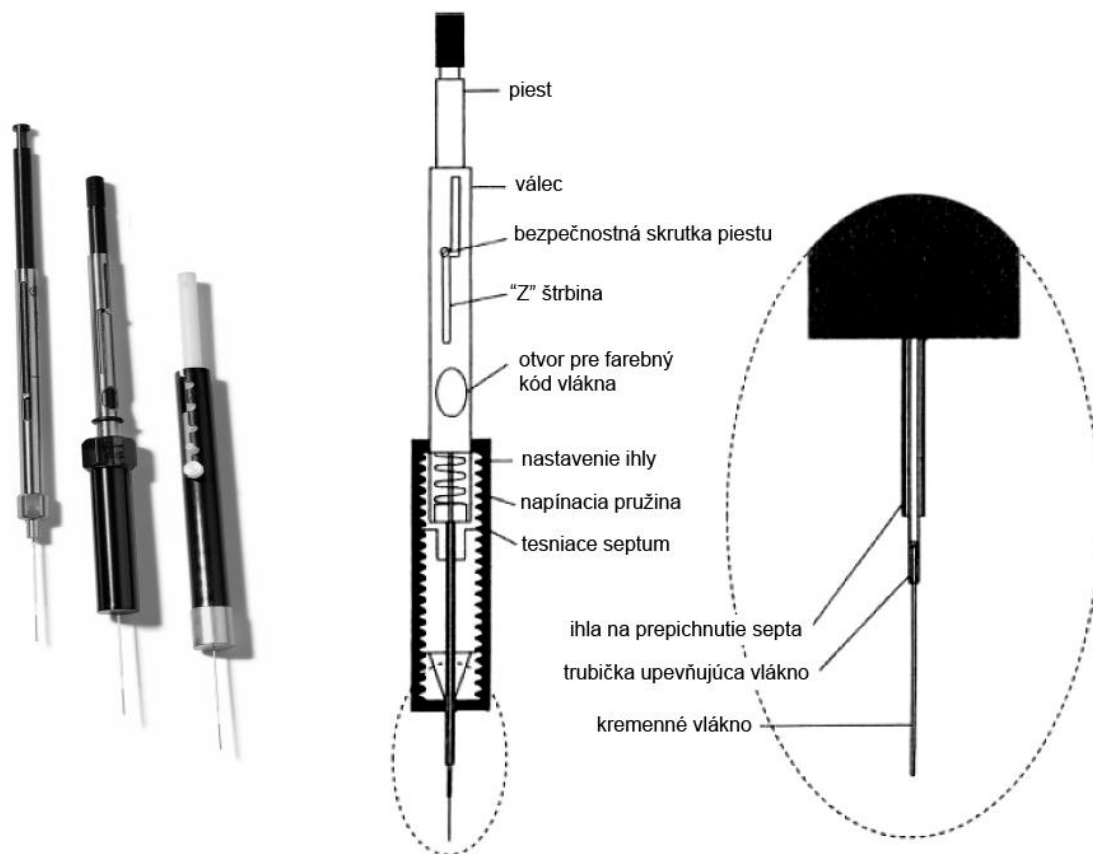
Dynamická headspace je mierne komplikovanejšou metódou než statická headspace, ale na druhú stranu je rýchlejšia a jednoduchšia na použitie. Ak je táto metóda používaná pre kvapalné vzorky, je nosný plyn zavedený do vzorky, a vylúči („purge“) vonné látky z headspace do lapača („trap“). Preto je dynamická headspace často nazývaná aj ako „purge and trap“ technika. [2]

V tejto metóde sa vzorka extrahuje inertným plynom, ako je dusík alebo hélium, ktorý odoberie z látky aromatickú zložku, čo má za následok lepší výťažok materiálu k analýze než pri statickej headspace. V separačnej časti aparatury sú prchavé látky zachytávané z prúdu plynu. Headspace vzorka je kontinuálne obnovovaná. Často je miešaná alebo inak agitovaná, aby sa zvýšil transfer hmoty zo vzorky do headspace. Vonné látky môžu byť zachytávané kryogenickým zachytávacím systémom, Tenaxom, živočíšnym uhlím alebo iným vhodným systémom. [22, 36]

Dynamická headspace, aj napriek svojej rýchlosti, poskytuje, na rozdiel od statickej headspace, ucelenú analýzu prchavých látok za vzniku minimálneho množstva artefaktov vytvorených počas odoberania vzorky. Headspace analýzy umožňujú analyzovať skutočný profil prchavých látok vytvorených rastlinami alebo potravinárskymi produktmi, pre poskytnutie dát reprezentujúcich čerstvé kvety, ovocie a zeleninu. Termálna desorpcia zlúčenín z absorbentu, aj napriek svojej výhodnosti a rýchlosti, má nevýhodu v tom, že spôsobuje molekulárne zmeny v niektorých dôležitých, nestálych aromatických látkach ako (Z)-3-hexanal, alkadiény a niektoré sírne zlúčeniny. [36]

#### ***2.6.1.10 Mikroextrakcia tuhou fázou***

Mikroextrakcia tuhou fázou (Solid-phase micro-extraction, SPME) je pomerne nová technika pre izoláciu vône potravín. Ako prvý vyvinul túto metódu Pawliszyn s kolektívom v roku 1989 a aplikoval ju na analýzu životného prostredia. Od tej doby sa stala najrozšírenejšou technikou pre analýzu prchavých látok v potravinách. [2]



**Obrázok 15** Schéma zariadenia SPME [37, 38]

Technika je kombináciou extrakcie a predkoncentrácie v jednom kroku. Používa kremenné vlákno (1 alebo 2 cm dlhé) potiahnuté polymérovou vrstvou na zachytávanie prchavých látok zo vzorky. Na trhu je k dispozícii veľké množstvo polárnych, nepolárnych alebo kombinovaných vlákien. Ihla obsahujúca vlákno je umiestnená do držáka SPME pre odber

vzoriek a desorpčné účely. Vzorka je umiestnená vo vialke SPME a uzavretá septom. Vlákno je vložené (pomocou ihly) do headspace nad vzorkou alebo môže byť ponorené do kvapalnej vzorky, aby absorbovalo prchavé látky. Po uplynutí stanoveného času odberu, v ktorom sú prchavé látky absorbované povlakom vlákna, je vlákno stiahnuté a desorbované priamo do GC alebo GC-MS. Schéma zariadenia používaného na absorpciu prchavých látok je uvedená na **obrázku 15**. [2, 22]

Podľa spôsobu vzorkovania SPME sa rozlišuje: [39]

- Priama SPME – „direct sampling“ (vlákno sa vysunie do kvapalnej vzorky), používa sa na analýzu všetkých druhov kvapalných vzoriek. Množstvo analytu sorbovaného na vlákno až do ustálenia rovnováhy je lineárne závislé od koncentrácie analytu v roztoku.

- „Headspace“ SPME technika (vlákno sa vysunie do plynnej fázy vzorky), používa sa na analýzu organických zložiek z rôznych matric. Je založená na rovnováhe analytov medzi polymérnou vrstvou nanosenou na vlákne, headspace plynou fázou a matricou vzorky. Čas vzorkovania pre headspace SPME (5 až 15 min) je kratší ako pre priamu SPME.

Výhody: [2, 39]

- rýchle a jednoduché použitie
- citlivosť (medza detekcie pre prchavé zložky je 15 ppt)
- bez rozpúšťadiel
- rýchle porovnanie vzorky a zistenie pachu (vône) a prípadov vo vzorke

Nevýhody: [2]

- aromatický profil zhromaždených prchavých látok závisí na druhu, hrúbke a dĺžke používaného vlákna ako aj na čase odberu a teplote
- prvotné vlákna potlačovali polárne zložky, ale kombinované vlákna tento problém vo veľkej miere eliminovali
- najlepšie výsledky sa získavajú v tom prípade, ak na všetky vzorky bolo použité rovnaké vlákno

**Zariadenia na SPME:** [40]

SPME zariadenia môžu byť v 2 prevedeniach, a to:

- manuálne SPME
- SPME s automatickým dávkovacím systémom

V súčasnosti sa začínajú využívať plne automatizované vzorkovacie zariadenia na analýzu vodných vzoriek. Vzorka je kontinuálne pumpovaná cez sklenenú prietokovú celu, ktorá je namontovaná na automatický dávkovací systém. Vlákno je v pravidelných intervaloch ponárané do pretekajúcej vzorky. Vzorka je umiestnená v hnedej sklenej nádobe a je pumpovaná cez sklenú prietokovú celu pomocou peristaltickej pumpy.

Vlákna, ktoré sa používajú v súpravách pre SPME, sú potiahnuté vrstvou polymérnej stacionárnej fázy. SPME vlákna pre rôzne analyty rôznych typov vzoriek sú:

- nepochárne - polydimethylsiloxánové (PDMS) s hrúbkou polymérnej vrstvy 7, 15, 30, 56, 95 a 100  $\mu\text{m}$
- polárne – polyakrylátové (PA) s hrúbkou 85, 95  $\mu\text{m}$
- Carbowax/divinylbenzén s hrúbkou polymérnej vrstvy 65  $\mu\text{m}$
- stacionárna fáza na báze uhlíka (Carbograph I)

Nepolárne zlúčeniny sú dobre extrahované nepolárnymi vláknami a polárne zlúčeniny polárnymi vláknami. Napr. vlákno s PDMS nepolárnou stacionárnou fázou extrahuje nepolárne zlúčeniny ako benzén, toluén, etylbenzén, izoméry xylénu a polyaromatické uhľovodíky z vody, ale za daných podmienok sa neextrahujú polárne zlúčeniny ako napr. fenol a jeho deriváty. Vlákno s PA polárnou stacionárnou fázou alebo vrstvou polárneho Carbowaxu naopak extrahuje fenol a jeho deriváty, ale nie je dostatočná afinita v prípade uvedených nepolárnych zlúčenín.

### ***Carboxen<sup>TM</sup>/Polydimethylsiloxane (CAR<sup>TM</sup>/PDMS)***

Carboxen je porézny syntetický materiál s veľkosťou častíc 2-10 μm. Častice sú suspendované v PDMS tak, aby boli rovnomerne zastúpené póry všetkých veľkostí. Veľkosť pórov určuje, ktoré analyty budú zachytené na poréznych časticách SPME vlákna. Niekoľkonásobná vrstva CAR<sup>TM</sup> častíc v PDMS viazaná na kremenné vlákno zlepšuje sorpčnú kapacitu vlákna. Na rozdiel od iných uhlíkových materiálov, majú póry syntetizovaných carboxenových častíc jednotný vzhľad. Póry prestupujú kompletne celé častice. Vlákno CAR<sup>TM</sup>/PDMS je určené pre extrakciu molekúl s uhlíkovým reťazcom C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>. Pre väčšie molekuly sa nedoporučuje, pretože tieto molekuly sú silne zachytené a ich desorpcia je obtiažna. Toto vlákno je vhodné pre extrakciu prchavých aromatických látok s nízkou molekulárnou hmotnosťou, pretože sú dobre zachytené v mikropóroch vrstvy [41, 42]

## **2.7 Plynová chromatografia**

Plynová chromatografia (Gas Chromatography – GC) je separačná metóda, ktorá k separácii plynov a pár využíva 2 heterogénne fáze. Mobilná fáza je spravidla inertný plyn. Stacionárna fáza je najčastejšie kvapalina zakotvená na inertnom nosiči, menej často povrchovo aktívny adsorbent. Výborná rozlišovacia schopnosť plynovej chromatografie sa využíva pri analýze mnohozložkových vzoriek v kombinácii s inými fyzikálno-chemickými metódami. [43]

Plynový chromatograf obsahuje: [44]

- zdroj nosného plynu - je ním tlaková fľaša, ktorá obsahuje vodík, dusík, hélium alebo argón
- čistiace zariadenie – zachycuje vlhkosť a nečistoty v nosnom plyne. Najmä odstraňuje stopy reaktívneho kyslíku, ktorý nenávratne poškodzuje stacionárne fáze v kolóne
- regulačný systém – zaisťuje stály alebo programovo sa meniaci prietok nosného plynu
- dávkovač – slúži k zavedeniu vzorky do prúdu nosného plynu. Technika dávkovania musí zabezpečiť odparenie vzorky v čo najkratšom čase
- kolónu – je to časť chromatografu, v ktorej je umiestnená stacionárna fáza. V kolóne nastáva separácia zložiek
- detektor – slúži k detekcii látok v nosnom plyne

- vyhodnocovacie zariadenie – spracováva signál z detektoru, zakresľuje chromatogram a prevádza jej vyhodnotenie
- termostat – zaisťuje dostatočnú teplotu dávkovača, kolóny a detektoru, aby bola vzorka udržiavaná v plynnom stave

### 2.7.1 Nosný plyn

Mobilná fáza v plynovej chromatografii je plyn. Pretože sa mobilná fáza účastní prenosu látok chromatografickou kolónou, zaužíval sa pre ňu názov nosný plyn. Voľbu nosného plynu ovplyvňuje viac faktorov. Jedným z rozhodujúcich je typ použitého detektoru. Medzi ďalšie patrí inertnosť, čistota, viskozita, hustota plynu a bezpečnosť pri práci. Ako nosné plyny sa používajú dusík, vodík, hélium a argón. Pretože vodík tvorí so vzduchom výbušné zmesi, jeho používanie v plynovej chromatografii je spojené so značným rizikom. [43]

Udržiavanie definovaného prietoku nosného plynu kolónou je dôležitou súčasťou analýzy, pretože prietok ovplyvňuje kvalitatívnu i kvantitatívnu analýzu. [43]

### 2.7.2 Dávkovanie vzoriek do plynového chromatografu

Roztoky sa dávkujú injekčnými striekačkami (0,1 až 10  $\mu\text{l}$ ) cez pryžové septum, tzv. nástrek vzorky. Pre plynové vzorky sa používajú plynotesné injekčné striekačky alebo obtokové dávkovacie kohúty rôznych konštrukcií. [43]

Poznáme rôzne metódy nastrekovania: [44]

- Nástrek do kolóny (on column) - je základnou metódou u náplňových kolón. Dávkuje sa 1 až 10  $\mu\text{l}$  vzorky. Je preferovaný aj pre kapilárne kolóny väčšej svetlosti s použitím jemnej nastrekovacej ihly 0,2 až 2  $\mu\text{l}$  vzorky. Horná časť kolóny je zahrievaná na teplotu o 10 – 30  $^{\circ}\text{C}$  nižšiu než je teplota rozpúšťadla. Vzorka musí byť rýchlo nastreknutá a vytvoriť kvapalnú film na stene kolóny. Po 30 až 60 s sa teplota kolóny prudko zvýši, aby nastalo odparenie.
- Nástrek pomocou deliaceho toku (split injection) – tenšie kapilárne kolóny majú malú kapacitu, preto sa najmä u koncentrovaných vzoriek musí pomocou deliča toku (splitter) jeho časť s nosným plynom oddeliť. Do kolóny sa dostáva len definovaný zlomok nastrekovaného množstva (spravidla 0,1 až 10 %), ktoré býva v intervale 0,1 až 2  $\mu\text{l}$ . Sklená vata v odparovacej trubici zaisťuje homogénne odparovanie a účinné premiešanie vzorky pred vstupom do kolóny
- Nástrek bez deliča toku (splitless injection) – metóda je vhodná pre relatívne veľké objemy 0,5 – 5  $\mu\text{l}$ , ktoré je nutné použiť pre stopovú analýzu. Používa sa to isté zariadenie ako s delením toku, ale odvod deliča je uzatvorený a otvára sa až po určitej dobe. Vzorka sa dávkuje pomaly do odparovacej trubice a nechá sa asi 60 s odparovať. Potom sa urobí opláchnutie septa. Dlhá doba vstupu vzorky do kolóny by viedla k rozšíreniu zón. Tomu sa zabráňuje pomocou Grobovej metódy. Táto metóda využíva

rozpúšťadla s vyššou teplotou varu (napr. oktán), ktoré kondenzuje a vytvorí kapilárny film v hlave kolóny. V ňom sú pohltené všetky analyty. Ako náhle sú všetky analyty zachytené a je vykonané opláchnutie septa, je zvýšená teplota kolóny a začne prebiehať separácia.

### 2.7.3 Chromatografické kolóny

Plynová chromatografia je separačná metóda, a preto je rozhodujúcim zariadením chromatografická kolóna, v ktorej sa vzorka rozdeľuje na zložky. Chromatografické kolóny v plynovej chromatografii je možné rozdeliť na: [43]

- náplňové kolóny – tie možno ešte rozdeliť na klasické a mikronáplňové
- kapilárne kolóny

Klasické náplňové kolóny sa najčastejšie vyrábajú z nerezovej ocele, hliníku, Teflónu, polyetylénu a skla. Dĺžka kolóny sa volí podľa toho, aký problém je treba riešiť a spravidla je v rozmedzí 30 až 400 cm. Vnútorňý priemer analytických kolón je 2 až 4 mm. Na preparatívne účely sa používajú väčšie priemery. [43]

Mikronáplňové kolóny sú moderné účinné náplňové kolóny, ktoré sa zhotovujú najčastejšie zo skla. Dĺžka kolón je spravidla väčšia než u klasických náplňových kolón. Vnútorňý priemer je asi 1 mm. [43, 44]

Náplňou klasických a mikronáplňových kolón môže byť tuhý zrnitý adsorbent alebo kvapalina zakotvená na vhodnom nosiči. [43]

Kapilárne kolóny je možné rozdeliť do 3 skupín: [43, 44]

- Kolóny s kvapalinou zachytenou na vnútorných stenách kapilárnej trubice (typ WCOT – Wall Coated Open Tubular). Kolóny musia byť veľmi úzke, aby bol zaistený dostatočný styk mobilnej fáze so stacionárnou. Hrúbka kvapalného filmu býva v rozmedzí 0,01  $\mu\text{m}$  až 5  $\mu\text{m}$ . Vnútorňý priemer týchto kolón sa pohybuje obvykle od 50  $\mu\text{m}$  až do 1 mm.
- Kolóny s kvapalinou zakotvenou na nosiči, ktorý je zachytený na vnútorných stenách kapiláry (typ SCOT – Support Coated Open Tubular). Hrúbka vrstvy náplne je 1 až 5  $\mu\text{m}$ .
- Kolóny s adsorbentom, ktorý je zachytený na vnútorných stenách kapiláry (typ PLOT – Porous Layer Open Tubular). Hrúbka vrstvy adsorbentu závisí na spôsobe výroby a môže byť v rozmedzí 0,01 až 10  $\mu\text{m}$ .

Kapilárne kolóny sa najčastejšie zhotovujú zo skla, taveného kremeňa a nerezovej ocele. Dĺžka kapilárnych kolón sa volí podľa náročnosti separácie v rozmedzí 10 až 200 m. Vnútorňý priemer kapilárnych kolón býva v rozmedzí 50  $\mu\text{m}$  až 1 mm.

## 2.7.4 Detektory

Nosný plyn z kolóny preteká detektorom, ktorý reaguje na prítomnosť analytu a vysíela signál, ktorý je zaznamenávaný v závislosti na čase. Detektor sleduje takú vlastnosť plynu z kolóny, ktorá závisí na druhu a koncentrácií zložiek. Musí mať dostatočnú citlivosť a jeho odozva by mala byť lineárnou funkciou obsahu analytu. Dôležitou požiadavkou je vysoká selektivita pre stanovené analyty. Najpoužívanějšíe sú tepelne-vodivostný detektor, plameňový ionizačný detektor a detektor elektrónového záchytu. [44]

**Tepelne-vodivostný detektor** (Thermal Conductivity Detector – TCD) je typom univerzálneho detektoru. Nosný plyn prúdi cez vlákno rozžeravené stálym elektrickým prúdom a ochladzuje ho na určitú teplotu. Prítomnosť zložky zmení tepelnú vodivosť prostredia okolo rozžeraveného vlákna, a tým jeho teplotu a elektrický odpor. Obvykle sa pracuje s dvomi rozžeravenými vláknami. Cez jedno prúdi čistý nosný plyn, cez druhé prúdi plyn z kolóny. Ich elektrické odpory sa porovnávajú v Wheatstonovom mostíku. Prítomnosť zložky sa prejaví jeho rozladením. [43]

### *Ionizačné detektory:*

Funkcia ionizačných detektorov je založená na vedení elektriny v plynch. Základom aparatury je ionizovaná nádoba, ktorou prúdi plyn cez dve elektródy, medzi ktorými je elektrické pole. [44]

- **Plameňový ionizačný detektor** (Flame Ionization Detector – FID) je najpoužívanjším detektorom v plynovej chromatografii. K ionizácii molekúl vymývaných z kolóny dochádza v plazme vodíkového plameňa, ktorý horí medzi dvoma elektródami. V čistom kyslíkovodíkovom plameni je len veľmi málo iónov (asi  $10^7$  iónov v  $1\text{ cm}^3$ ). Obsah iónov však veľmi vzrastá už za prítomnosti stopových množstiev uhl'ovodíku. Plameňový ionizačný detektor nie je citlivý na zlúčeniny, ktoré termickým štiepením neposkytujú radikály  $\text{CH}^\bullet$ . [43]
- **Plameňový ionizačný detektor s alkalickým kovom** (AFID) obsahuje v účinnom priestore soľ alkalického kovu. Ióny alkalického kovu sa teplom kyslíkovodíkového plameňa dostávajú do plynnej fáze. Tu veľmi ochotne reagujú s heteroatómami organických rozpúšťadiel, najmä s fosforom a dusíkom. Preto organické zlúčeniny s týmito prvkami dávajú výrazne väčší signál. [43]
- **Bezplameňový detektor s alkalickým kovom (bezplameňový TID)** – zdrojom iónov alkalického kovu je elektricky vyhrievaná soľ alkalického kovu. Na jej povrchu sa pôsobením vysokej teploty spaľuje vodík. Energia pri spaľovaní nestačí na ionizáciu uhl'ovodíkov, ale stačí na špecifické reakcie s fragmentmi obsahujúcimi dusík a fosfor. Veľká selektivita a citlivosť na tieto látky umožňuje použiť tento detektor na detekciu opiátov, látok používaných k dopingu atď. [43]



- **Detektor elektrónového záchytu** (ECD) princípom detekcie je zachytávanie elektrónov elektronegatívnymi atómami, funkčnými skupinami alebo molekulami organických látok. Ako zdroj elektrónov sa používa  $\beta$  žiarič. Je veľmi selektívny hlavne k zlúčeninám obsahujúcim atómy halogénov, fosforu, síry, olova, kyslíku, k nitrozlučeninám a aromatickým uhľovodíkom. [42]
- **Fotoionizačný detektor** (PhotoIonization Detector – PID) – ionizáciu látok spôsobuje ultrafialové žiarenie. Vhodnou voľbou vlnovej dĺžky ultrafialového žiarenia sa významne ovplyvní selektivita detektoru. Ionizované sú organické látky, kyslík, amoniak, sulfán. Neionizujú sa niektoré anorganické plyny, napr. dusík, uhoľnaté oxidy a voda. Je nesmierne citlivý (100-krát viac ako FID). [44]
- Nezastupiteľný význam má spojenie plynového chromatografu s **hmotnostným spektrometrom** (MS). Ióny sú v hmotnostnom spektrometre analyzované kvadrupólovým analyzátorom alebo ešte menej miesta vyžadujúcou iónovou pascou, kde je priestor analýzy iónov spoločný s iónovým zdrojom. Nepostrádateľné je spojenie GC-MS, kde sa prevádza identifikácia neznámych zložiek zmesí. Pre každú zložku možno získať jej hmotnostné spektrum a identifikovať ju porovnaním jej spektra s knižnicou spektier zlúčenín uložených v počítači. [44]

### 3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

Cieľom experimentálnej časti bolo premerať niekoľko vybraných vzoriek potravín a následne identifikovať v nich obsiahnuté vybrané alergénne látky.

#### 3.1 Laboratórne vybavenie

##### 3.1.1 Chemikálie

K tejto práci bolo použitých celkom 13 štandardov alergénnych vonných látok.

##### 3.1.1.1 Štandardy vonných alergénnych látok

• Anízalkohol	98 %	Sigma-Aldrich
• $\alpha$ -Amylcinnamal, <i>cis</i> + <i>trans</i>	97 %	Sigma-Aldrich
• Cinnamaldehyd	$\geq 93$ %	SAFC Supply Solution
• $\alpha$ -Hexylcinnamaldehyd	$\geq 95$ %	SAFC Supply Solution
• 7-Hydroxycitronellal	$\geq 95$ %	Fluka Analytical
• Methyl 2-oktynoát	99 %	Sigma-Aldrich
• Citral, <i>cis</i> + <i>trans</i>	95 %	Alfa Aesar
• Citronellol	96 %	Alfa Aesar
• Eugenol	99 %	Alfa Aesar
• Geraniol	97 %	Alfa Aesar
• Isoeugenol, <i>cis</i> + <i>trans</i>	98 %	Alfa Aesar
• Limonen	97 %	Alfa Aesar
• Linalool	97 %	Alfa Aesar

##### 3.1.1.2 Rozpúšťadlá

• Heptan	$\geq 99$ %	Sigma-Aldrich
• Ethanol	96 %	Lach-Ner

##### 3.1.2 Plyny

- Dusík 5.0 SIAD v tlakovej fľaši s redukčným ventilom a kovovou membránou
- Vodík 5.5 SIAD v tlakovej fľaši s redukčným ventilom
- Vzduch 5.0 SIAD v tlakovej fľaši s redukčným ventilom pre kyslík

##### 3.1.3 Prístroje a pracovné pomôcky

- Plynový chromatograf TRACE GC 2000 (ThermoQuest Italia S. p. A., Taliansko)

- Vodná lázeň Julabo TW 12, LABORTECHNIK GMBH , Nemecko
- Analytické digitálne váhy GR-202-EC, HELAGO, Taliansko
- Počítač PC Intel Celeron CPU, systém Microsoft Windows XP Profesional 2002, program Chrom-Card
- Chladnička s mrazničkou Amica, model AD 250
- SPME vlákno so stacionárnou fázou Carboxen/Polydimethylsiloxan (CAR<sup>TM</sup>/PDMS) o hrúbke 85  $\mu\text{m}$ , SUPELCO
- Automatické mikropipety:
  - ✓ BIOHIT Proline, 100,0 – 1000,0  $\mu\text{l}$
  - ✓ BIOHIT Proline, 10,0 – 100,0  $\mu\text{l}$
  - ✓ GILSON Pipetman, 2,0 – 20,0  $\mu\text{l}$
  - ✓ BIOHIT Proline Plus, 0,1 – 3,0  $\mu\text{l}$
  - ✓ LABSYSTEMS Finnpiquette, 0,2 – 2,0  $\mu\text{l}$
- Vialky o objeme 4 ml so šróbovacím uzáverom a septom
- Trecia miska s tlčíkom
- Držiak, stojan
- Bežné laboratórne sklo
- Špičky, lyžičky, špachtle, parafilm

### 3.2 Podmienky SPME-GC-FID

Teplotný program GC, SPME vlákno, extrakčné podmienky pre metódu SPME a ostatné parametre analýzy (*Tabuľky 2, 3, 4*) sú prevzaté z literatúry a predošlých prác, ktoré sa zaoberali rovnakou alebo podobnou problematikou. [41, 45, 46, 47]

- Plynový chromatograf TRACE GC 2000 (ThermoQuest Italia S. p. A., Taliansko) s plameňovo ionizačným detektorom a split/splitless injektorom
- Kapilárna kolóna DB–WAX (30 m  $\times$  0,32 mm  $\times$  0,5  $\mu\text{m}$ ), teplotný limit: 20 – 240  $^{\circ}\text{C}$
- Nosný plyn: dusík (prietok 0,9 ml $\cdot$ min<sup>-1</sup>)
- Injektor: 250  $^{\circ}\text{C}$ , dávkovanie ručne, CT splitless injection (konštantná teplota v celom injektore)

**Tabuľka 2:** Teplotný program GC

Teplotný program GC		
Počiatková teplota	40 $^{\circ}\text{C}$	1 min
Vzostupný gradient	4 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , do 200 $^{\circ}\text{C}$	9 min
Celková doba analýzy	-	50 min

**Tabuľka 3: Detektor**

Plameňovo ionizačný detektor (FID)	
<b>Teplota</b>	220 °C
<b>Prietok vzduchu</b>	350 ml·min <sup>-1</sup>
<b>Prietok vodíku</b>	35 ml·min <sup>-1</sup>
<b>Make-up dusíku</b>	30 ml·min <sup>-1</sup>

**Tabuľka 4: Optimalizované podmienky metódy SPME**

Optimalizované podmienky metódy SPME	
<b>Typ SPME vlákna</b>	Carboxen/Polydimethylsiloxan (CAR™/PDMS), hrúbka 85 µm
<b>Extrakčný postup</b>	headspace (HS-SPME)
<b>Extrakčná teplota (teplota vodnej lázne)</b>	35 °C
<b>Doba dosiahnutia rovnováhy</b>	20 min
<b>Doba extrakcie</b>	30 min

### 3.3 Reálne vzorky potravín

Metódou SPME-GC-FID boli analyzované 4 rôzne vzorky potravinárskych výrobkov (*tabuľka 5*). Vzorky boli zakúpené v bežnej obchodnej sieti a uchované podľa pokynov výrobcu uvedených na obale. Výrobca na obale uvádza, že dané výrobky obsahujú arómu, respektíve prírodné a prírodne identické aromatické látky.

**Tabuľka 5: Analyzované potravinárske produkty**

Potravinárske produkty			
Názov	Popis	Objem (hmotnosť)	Výrobca
<b>Bon Pari</b>	Cukríky: melón s višňovou náplňou; prírodná aróma	50 g	Nestlé Česko s.r.o., Praha 4
<b>Dilmah Strawberry</b>	Cejlónsky čierny pravý aromatizovaný čaj; prírodná aróma jahody	37,5 g	MJF Group, Sri Lanka
<b>Hamánek Čučoriedka</b>	Kojenecká výživa s čučoriedkami od dokončeného 4. mesiaca; neobsahuje umelé arómy	190 g	Hamé s.r.o., Kunovice, ČR
<b>Nestea Peach</b>	Ladový čaj s príchutťou broskyne; aróma	0,5 l	Coca – Cola HBC Česká republika, s.r.o.

### **3.4 Pracovné postupy**

#### **3.4.1 Príprava vzoriek**

Potraviny pevného skupenstva (cukríky, čaj) boli rozdrvené v mažiare. Z takto pripravenej vzorky bol odobratý 1 g a umiestnený do vialky so šróbovacím uzáverom a plynotesným septom. Z kvapalných vzoriek (Nestea Peach) bol odpipetovaný 1 ml a umiestnený do vialky so šróbovacím uzáverom a plynotesným septom.

#### **3.4.2 Extrakcia aromaticky aktívnych látok**

Vialka s pripravenou vzorkou (1 ml alebo 1 g) bola umiestnená do vodnej lázne s extrakčnou teplotou 35 °C, v ktorej bola ponechaná 20 min. Počas tejto doby dochádzalo k ustáľovaniu rovnováhy medzi vzorkou a headspace priestorom. Následne bol do držiaku na stojane umiestnený SPME extraktor. Cez septum bolo do headspace priestoru nad vzorkou vsunuté SPME vlákno, ktoré je chránené dutou oceľovou ihlou. Vlákno bolo vysunuté pomocou pohyblivého piestu a aromaticky aktívne látky sa extrahovali po dobu 30 min. Po uplynutí daného času bolo vlákno opäť zasunuté do ochrannej ihly, SPME extraktor bol vybratý zo stojanu a ihneď premiestnený do nástrekovej komory plynového chromatografu. Tu bolo vlákno opäť vysunuté a vplyvom vysokej teploty (250 °C) došlo k desorpcii nasorbovaných látok. Desorpcia trvala 20 min.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUSIA

### 4.1 Identifikácia jednotlivých štandardov

Optimalizácia a validácia vybranej SPME-GC-FID metódy bola náplňou diplomových prác. Vhodné rozpúšťadlo pre každý alergénny štandard ako aj jeho retenčné časy (*tabuľka 6, 7*) a príslušné chromatogramy (*grafy 1, 2, 3, 4*), uvedené v prílohe I – IV, boli prevzaté z týchto diplomových prác. [48, 49]

**Tabuľka 6:** Retenčné časy štandardov a príslušné rozpúšťadlá

Alergénny štandard	Retenčný čas $t_R$ [min]	Rozpúšťadlo
$\alpha$ -Amylcinnamal I	24,46	heptan
Methyl 2-oktynoát	27,76	
7-Hydroxycitronellal	36,02	
Cinnamal	38,39	
$\alpha$ -Amylcinnamal II	43,53	ethanol
Anízalkohol	44,41	
$\alpha$ -Hexylcinnamal	46,67	heptan
Limonen	13,70	
Linalool	24,82	
Citral I	29,02	
Citral II	30,39	
Citronellol	31,10	
Geraniol	33,28	
Eugenol	41,14	
Isoeugenol I	43,37	
Isoeugenol II	46,23	

**Tabuľka 7:** Rozdelenie štandardov do zmesí

Zmes	Alergénny štandard	Retenčný čas $t_R$ [min]	Rozpúšťadlo
<b>Zmes A</b>	$\alpha$ -Amylcinnamal I	24,46	<b>Heptan</b>
	7-Hydroxycitronellal	36,02	
	$\alpha$ -Amylcinnamal II	43,53	
	$\alpha$ -Hexylcinnamal	46,67	
<b>zmes B</b>	Methyl 2-oktynoát	27,76	<b>Heptan</b>
	Cinnamal	38,39	
<b>samostatne</b>	Anízalkohol	44,41	<b>Ethanol</b>
<b>Zmes C</b>	Limonen	13,70	<b>Heptan</b>
	Linalool	24,82	
	Citral I	29,02	
	Citral II	30,39	
	Citronellol	31,10	
	Geraniol	33,28	
	Eugenol	41,14	

**Tabuľka 7:** Rozdelenie štandardov do zmesí – pokračovanie

<b>Zmes C</b>	Isoeugenol I	43,37	<b>Heptan</b>
	Isoeugenol II	46,23	

## 4.2 Reálne vzorky

Náhodne boli vybrané 4 rozdielne vzorky potravinových výrobkov (*tabuľka 5*), ktoré boli analyzované metódou SPME-GC-FID. Výrobca na obale uvádza, že dané výrobky obsahujú arómu, respektíve prírodné a prírodne identické aromatické látky. Preto možno predpokladať, že ich súčasťou budú niektoré z vybraných alergénnych aromatických látok.

Prítomnosť sledovaných alergénnych látok sa určila z chromatogramu reálnych vzoriek, na základe retenčných časov štandardov (*tabuľka 8*). Chromatogramy reálnych vzoriek sú uvedené v *prílohe V – VIII*.

**Tabuľka 8:** Prítomnosť skúmaných alergénnych látok vo vybraných druhoch potravín

Reálne vzorky		Bon Pari	Dilmah Strawberry	Hamánek Čučoriedka	Nestea Peach
Štandardy vonných alergénnych látok I	$\alpha$ -Amylcinnamal I	✓	✗	✓	✓
	Methyl 2-oktynoát	✗	✗	✗	✗
	7-Hydroxycitronellal	✗	✗	✗	✓
	Cinnamal	✗	✓	✗	✗
	$\alpha$ -Amylcinnamal II	✗	✗	✓	✓
	Anízalkohol	✗	✗	✗	✗
	$\alpha$ -Hexylcinnamal	✓	✗	✓	✓
Štandardy vonných alergénnych látok II	Limonen	✓	✓	✗	✗
	Linalool	✓	✓	✗	✓
	Citral I	✓	✗	✗	✗
	Citral II	✓	✓	✓	✗
	Citronellol	✓	✗	✗	✗
	Geraniol	✗	✓	✗	✗
	Eugenol	✓	✗	✗	✓
	Isoeugenol I	✗	✓	✗	✗
	Isoeugenol II	✗	✗	✗	✗

Melónové cukríky Bon Pari s višňovou náplňou majú prírodnú arómu. Vo vzorke bolo prítomných 8 alergénnych vonných látok:  $\alpha$ -Amylcinnamal I,  $\alpha$ -Hexylcinnamal, limonen, linalool, citral I, citral II, citronellol a eugenol (*príloha V*).

Dilmah Strawberry, cejlónsky čierny čaj s prírodnou jahodovou arómou, obsahoval 6 alergénnych vonných látok: cinnamal, limonen, linalool, citral II, geraniol a isoeugenol I. Jahodová aróma môže odpovedať prítomnosti linaloolu a limonenu (*príloha VI*).

Kojenecká výživa Hamánek s čučoriedkami, od dokončeného 4. mesiaca, podľa informácií na obale, neobsahuje žiadne umelé arómy. V chromatograme sa objavili len veľmi nízke množstvá  $\alpha$ -amylcinnamalu I,  $\alpha$ -amylcinnamalu II,  $\alpha$ -hexylcinnamalu a citralu II, ktorý je prirodzenou súčasťou čučoriedok. (*príloha VII*).

Broskyňová aróma ľadového čaju Nestea Peach je spôsobená prítomnosťou linaloolu. Okrem zmienenej alergénnej vonnej látky boli prítomné  $\alpha$ -amylcinnamal I,  $\alpha$ -hexylcinnamal,  $\alpha$ -amylcinnamal II, 7-hydroxycitronellal, linalool a eugenol (*príloha VIII*).



## 5 ZÁVER

Vonné látky sú zmesou prírodného alebo syntetického charakteru, ktoré dodávajú výrobkom vôňu, prípadne prekrývajú nežiaduci zápach. Ich prítomnosť v potravinách je označená na obale ako „aróma“, jej konkrétne zloženie však nebýva uvedené.

Pozornosť tejto bakalárskej práce bola zameraná na potenciálne alergénne aromaticky aktívne látky a na ich identifikáciu v náhodne vybraných druhoch potravín pomocou metódy headspace mikroextrakcie tuhú fázou v spojení s plynovou chromatografiou. Tieto látky môžu u človeka vyvolať rôzne nežiaduce reakcie ako napríklad cheilitídu, svrbenie kože, koprivku. Ich používanie v potravinách však nie je doposiaľ obmedzené.

V experimentálnej časti boli premerané štyri reálne vzorky potravín. Ich analýzou bola zistená prítomnosť potenciálnych alergénnych vonných látok. V potravinách sa vyskytovali najmä  $\alpha$ -Amylcinnamal,  $\alpha$ -Hexylcinnamal, Linalool a Citral. Vzhľadom k tomu, že u časti identifikovaných látok neboli z časových dôvodov k dispozícii parametre štandardov potrebné pre kvantifikáciu, nebola prevedená kvantifikácia identifikovaných zlúčenín. Po dokončení validácie metódy a kompletného premerania všetkých legislatívou daných štandardov (čo bude náplňou ďalších nadväzujúcich diplomových prác) bude samozrejme sledovaná prítomnosť daných látok z hľadiska kvantitatívneho.

Metóda SPME v spojení s GC sa ukázala ako jednoduchá, účinná a rýchla metóda na stanovovanie vonných látok. Nakoľko boli potenciálne alergénne látky prítomné vo väčšine potravinárskych výrobkov, aj keď len v minimálnych množstvách, je možné predpokladať, že v budúcnosti bude ich obsah v potravinárskych výrobkoch legislatívne ošetrovaný, rovnako ako je tomu v kozmetických výrobkoch. Ich prítomnosť v potravinách však pravdepodobne nemá významný vplyv na zdravie konzumentov.

## 6 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

1. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 2. 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 320 s. ISBN 80-86659-01-1.
2. GRUEN, I. *Chemistry and technology of flavor and fragrances*. Oxford, UK : Blackwell Publishing, 2004. 336 p. ISBN 0-8493-2372-X.
3. TRNKA, S. *I.sme.sk* [online]. 2009-03-09 [cit. 2010-05-06]. Vôňa a chuť. Dostupné z WWW: <<http://i.sme.sk/cdata/8/43/4345158/chut.pdf>>.
4. BÍLEK, J. *Zuova.cz* [online]. 2005-06-16 [cit. 2010-04-16]. Čich a pachové látky. Dostupné z WWW: <[http://www.zuova.cz/informace/obecne/info001\\_bilek\\_jiri-cich\\_a\\_pachove\\_latky.pdf](http://www.zuova.cz/informace/obecne/info001_bilek_jiri-cich_a_pachove_latky.pdf)>.
5. Research Machines. *Encyklopedia.farlex.com* [online]. Helicon Publishing, 2009 [cit. 2010-04-21]. Organ of smell. Dostupné z WWW: <<http://encyclopedia.farlex.com/organ+of+smell>>.
6. PANČÍK, P., MARCIŠOVÁ, D. *Bioweb.genezis.eu* [online]. 2009-08-26 [cit. 2010-04-16]. Zmyslové orgány človeka. Dostupné z WWW: <<http://www.bioweb.genezis.eu/index.php?cat=6&file=zmyslova>>.
7. LAMAR, J. *Avalonwine.com* [online]. 1997 [cit. 2010-04-16]. Tasting Wine. Dostupné z WWW: <<http://avalonwine.com/Tasting-Wine.php>>.
8. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 3. 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 368 s. ISBN 80-86659-02-X
9. SKORŠEPA, M. *Fpv.umb.sk* [online]. 2004 [cit. 2010-05-06]. Aditívne vylepšujúce prípravky v potravinách. Dostupné z WWW: <[http://www.fpv.umb.sk/kat/kch/cejpek/aditivne\\_pripravky.html](http://www.fpv.umb.sk/kat/kch/cejpek/aditivne_pripravky.html)>.
10. TREPKOVÁ, E., VONÁŠEK, F. *Vůně a parfémy : Tajemství přitažlivosti*. Praha 4 : MAXDORF, 1997. 173 s. ISBN 80-85800-48-9.
11. *Safran.sk* [online]. 2004 [cit. 2010-04-21]. Jednodruhé koreniny. Dostupné z WWW: <<http://www.safran.sk/index.php?go=sortiment&kategoria=1>>.
12. *Atlasrostlin.cz* [online]. 2010 [cit. 2010-04-21]. Anýz (Pimpinella anisum). Dostupné z WWW: <<http://fotka.atlasrostlin.cz/anyz/fotky-pridane-uzivateli-338>>.
13. TANDLMAJEROVÁ, A. *Kvetyzahrada.sk* [online]. 2009-04-02 [cit. 2010-04-21]. Fenikel obyčajný (Foeniculum vulgare). Dostupné z WWW: <<http://www.kvetyzahrada.sk/sortiment-byliniek.html>>.
14. KRESÁNEK, J., PLAČKOVÁ, S., CAGÁŇOVÁ, B. *Solen.sk* [online]. 2007 [cit. 2010-05-14]. TOXIKOMÁNIE U ADOLESCENTOV. Dostupné z WWW: <[http://www.solen.sk/index.php?page=pdf\\_view&pdf\\_id=2367](http://www.solen.sk/index.php?page=pdf_view&pdf_id=2367)>.
15. HOJLUND, Bjarne. *Bh-froe.com* [online]. 2010 [cit. 2010-04-21]. Peber - Piper Nigrum. Dostupné z WWW: <[http://www.bh-froe.com/ZC/index.php?main\\_page=product\\_info&products\\_id=562](http://www.bh-froe.com/ZC/index.php?main_page=product_info&products_id=562)>.
16. LONGARAY DELAMARE, Ana Paula, et al. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry*. 2007, 100, pp. 603-608. ISSN 0308-8146.

17. RAJESWARA RAO, B.R., et al. Chemicals profiles of primary and secondary essential oils of palmarosa (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats var. *motia* Burk.). *Industrial crops and products*. 2005, 21, pp. 121-127. ISSN 0926-6690.
18. VONÁŠEK, F., TREPKOVÁ, E., NOVOTNÝ, L. *Látky vonné a chuťové*. 1.vyd. Praha : SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1987. 437 s.
19. BAUER, K., GARBE, D., SURBURG, H. *Common fragrance and flavour materials*. 4th edition. D-69469 Weinheim, Germany : WILEY-VCH Verlag GmbH, 2001. 282 p. ISBN 3-527-30364-2.
20. ČOPÍKOVÁ, J. *Technologie čokolády a cukrovinek*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1999. 168 s. ISBN 80-7080-365-7.
21. GÜNTHER BERGER, R. *Flavours and fragrances : Chemistry bioprocessing and sustainability*. Berlin : Springer-Verlag, 2007. 648 p. ISBN 978-3-540-49338-9.
22. TAYLOR, A. J., LINFORTH, R. S. T. *Food flavour technology*. 2nd edition. Oxford, UK : Blackwell Publishing, 2010. 360 p. ISBN 978-1-4051-8543-1.
23. SCHRANKEL, K. R. Safety evaluation of food flavorings. *Toxicology*. 2004, 198, pp. 203-211. ISSN 0300-483X.
24. EÚ. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1334/2008 zo 16. decembra 2008 o arómach a určitých zložkách potravín s aromatickými vlastnosťami na použitie v potravinách a o zmene a doplnení nariadenia Rady (EHS) č. 1601/91, nariadení (ES) č. 2232/96 a (ES) č. 110/2008 a smernice 2000/13/ES. In *Úradný vestník Európskej únie*. 2008, L 354, s. 334-354.
25. VILLA, C., GAMBARO, R., DORATO, S. High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of 24 fragrance allergens to study scented products. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2007, 44, pp. 755-762. ISSN 0731-7085.
26. SURBURG, H., PANTEN, J. *Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses*. 5th completely revised and enlarged edition. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, 2006. 318 p. ISBN 978-3-527-31315-0.
27. SALVADOR, A., CHISVERT, A. *Analytical methods to determine potentially allergenic fragrance-related substances in cosmetic*. Analysis of Cosmetic Products. Ed. Elsevier, 2007. 487 p. ISBN 978-0-444-52260-3.
28. EÚ. SMERNICA 2003/15/ES EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY z 27. februára 2003 ktorou sa mení a dopĺňa smernica Rady 76/768/EHS o aproximácii zákonov členských štátov vzťahujúcich sa na kozmetické výrobky. In *Úradný vestník Európskej únie*. 2003, L 66, s. 26-35.
29. MITSUI, T. Cosmetics and fragrances. *New Cosmetic Science*. Ed. Elsevier, 1997. 499 p. ISBN 978-0-444-82654-1.
30. *PubChem*. [databáza online]. 2004. [cit. 15.3.2010]. Dostupné z WWW: <<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>.
31. Committee on Specifications, Food Chemicals Codex, of the Committee on the Food Protection National Research Council. *Food chemical codex*. 2nd edition. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1972. 1039 p. ISBN 0-309-01949-4.

32. *Cosmeicsinfo.org* [online]. 2007-11-28 [cit. 2010-05-07]. Ingredients. Dostupné z WWW: <[http://www.cosmeticsinfo.org/search\\_results.php?empty\\_box=&txtFind=amyl&x=31&y=10](http://www.cosmeticsinfo.org/search_results.php?empty_box=&txtFind=amyl&x=31&y=10)>.
33. JECFA. *Fao.org* [online]. 2009 [cit. 2010-05-07]. Flavourings Index. Dostupné z WWW: <<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-flav/index.html?showSynonyms=1>>.
34. *Tobaccodocuments.org* [online]. 1999 [cit. 2010-05-07]. Additives. Dostupné z WWW: <<http://tobaccodocuments.org/profiles/additives/>>.
35. Restec. *Restec.com* [online]. 2000 [cit. 2010-04-30]. A technical guide for static headspace analysis using GC. Dostupné z WWW: <<http://www.restek.com/restek/images/external/59895A.pdf>>.
36. DE CUYPER, M., BULTE, J. W. M. *Physics and Chemistry Basis of Biotechnology*. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2001. 334 p. ISBN 0-7923-7091-0.
37. ZHU, F. *Alpha.chem.umb.edu* [online]. 2007-11-28 [cit. 2010-05-01]. Green Analytical Chemistry: Solid phase Microextraction. Dostupné z WWW: <[alpha.chem.umb.edu](http://alpha.chem.umb.edu)>.
38. KATAOKA, H., LORD, H. L., PAWLISZYN, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of chromatography A*. 2000, 880, pp. 35-62. ISSN 0021-9673.
39. STRAKOVÁ, M., MATISOVÁ, E. Súčasný trendy v analýze organických látok vo vzorkách vôd s využitím HRGC a jej kombinácie s predkoncentračnými technikami. *Chemické listy*. 1997, 91, pp. 330-341. ISSN 1213-7103.
40. SEDLÁKOVÁ, J., MATISOVÁ, E., SLEZÁČKOVÁ, M. Mikroextrakcia na tuhej fáze a jej využitie v enviromentálnej analýze. *Chemické listy*. 1998, 92, s. 633-642. ISSN 1213-7103.
41. JELÍNKOVÁ, M. *Stanovenie vonných látok rastlinného pôvodu v potravinách*. Brno, 2009. 80 s. Diplomová práca. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
42. VÍTOVÁ, E. *Hodnocení tvorby těkavých, senzoricky účinných látek mikrobiálních metabolitů a jejich charakterizace*. Brno, 2002. 110 s. Dizertační práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
43. CHURÁČEK, J., et al. *Analytická separace látek*. Praha : SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1990. 384 s. ISBN 80-03-00569-8.
44. KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava : Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
45. MOKÁŇOVÁ, R. *Analýza vonných látek v kosmetických prostředcích metodou plynové chromatografie*. Brno, 2009. 92 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
46. ŠTOURAČOVÁ, A. *Vliv podmínek a doby skladování na obsah aromaticky aktivních látek ve sterilovaných tavených sýrech*. Brno, 2008. 70 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
47. MALINA, L. *Vliv aromaticky aktivních látek na chuť ovocných jogurtů*. Brno, 2008. 81 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
48. ŠKOPOVÁ, J. *Stanovení vybraných vonných látek v potravinách*. Brno, 2010. 82 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.

49. KOLÁČKOVÁ, A. *Analýza vybraných alergenů ve vonných kompozicích*. Brno, 2010. 119 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická

## 7 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV

<b>NMR</b>	<i>Nuclear magnetic resonance spectroscopy</i>	Nukleárna magnetická rezonančná spektroskopia
<b>GC</b>	<i>Gas chromatography</i>	Plynová chromatografia
<b>MS</b>	<i>Mass spectrometry</i>	Hmotnostná spektrometria
<b>FEMA</b>	<i>Flavor and Extract Manufacturers Association</i>	Združenie amerických výrobcov aromatických prísad a výťažkov
<b>CoE</b>	<i>Council of Europe</i>	Rada Európy
<b>JECFA</b>	<i>Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives</i>	Spojená expertná organizácia Svetovej organizácie pre poľnohospodárstvo a výživu (FAO) a Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO)
<b>FAO</b>	<i>Food and Agriculture Organization</i>	Organizácia Spojených národov pre výživu a poľnohospodárstvo
<b>WHO</b>	<i>World Health Organization</i>	Svetová zdravotnícka organizácia
<b>CAC</b>	<i>Codex Alimentarius Commission</i>	Komisia Codex Alimentarius
<b>CCFAC</b>	<i>Codex Committee on Food Additives and Contaminants</i>	Kódexový výbor pre potravinárske prídavné látky a kontaminanty
<b>FEXPAN</b>	<i>Expert Panel of the Flavour and Extract Manufacturers' Association of the United States (FEMA EXPERT PANEL)</i>	Skupina odborníkov združenia amerických výrobcov aromatických prísad a výťažkov
<b>EFSA</b>	<i>European Food Safety Authority</i>	Európsky úrad pre bezpečnosť potravín
<b>SCCNFP</b>	<i>Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products</i>	Vedecký výbor pre kozmetické produkty a nepotravinové produkty určené spotrebiteľom
<b>SCCPs</b>	<i>Scientific Committee on Consumer Products</i>	Vedecký výbor pre spotrebný tovar
<b>CAS č.</b>	<i>Chemical Abstracts Service Registry Number</i>	Registrované číslo CAS
<b>INCI</b>	<i>International Nomenclature for Cosmetic Ingredients</i>	Medzinárodné názvoslovie pre označovanie ingrediencií na kozmetických prostriedkoch
<b>LD</b>	<i>Lethal dose</i>	Smrteľná dávka

<b>SAFE</b>	<i>Solvent assisted flavour evaporation</i>	Odparovanie vonných látok použitím rozpúšťadla
<b>SDE</b>	<i>Simultaneous distillation extraction</i>	Simultánna destilačná extrakcia
<b>SPME</b>	<i>Solid-phase micro-extraction</i>	Mikroextrakcia tuhou fázou
<b>GC-MS</b>	<i>Gas chromatography-Mass spectrometry</i>	Plynová chromatografia s hmotnostnou detekciou
<b>PDMS</b>	<i>Polydimethylsiloxane</i>	Polydimethylsiloxán
<b>PA</b>	<i>Polyacrylate</i>	Polyakrylát
<b>CAR<sup>TM</sup>/PDMS</b>	<i>Carboxen<sup>TM</sup>/Polydimethylsiloxane</i>	Carboxen <sup>TM</sup> /Polydimethylsiloxán
<b>WCOT</b>	<i>Wall Coated Open Tubular</i>	Kolóny s kvapalinou zachytenou na vnútorných stenách kapilárnej trubice
<b>SCOT</b>	<i>Support Coated Open Tubular</i>	Kolóny s kvapalinou zakotvenou na nosiči, ktorý je zachytený na vnútorných stenách kapiláry
<b>PLOT</b>	<i>Porous Layer Open Tubular</i>	Kolóny s adsorbentom, ktorý je zachytený na vnútorných stenách kapiláry
<b>TCD</b>	<i>Thermal Conductivity Detector</i>	Tepelne-vodivostný detektor
<b>FID</b>	<i>Flame Ionization Detector</i>	Plameňový ionizačný detektor
<b>AFID</b>	<i>Alkali Flame Ionization Detector</i>	Plameňový ionizačný detektor s alkalickým kovom
<b>TID</b>	<i>Thermionic Ionization Detector</i>	Termionický ionizačný detektor
<b>ECD</b>	<i>Electron Capture Detector</i>	Detektor elektrónového záchytu
<b>PID</b>	<i>PhotoIonization Detector</i>	Fotoionizačný detektor

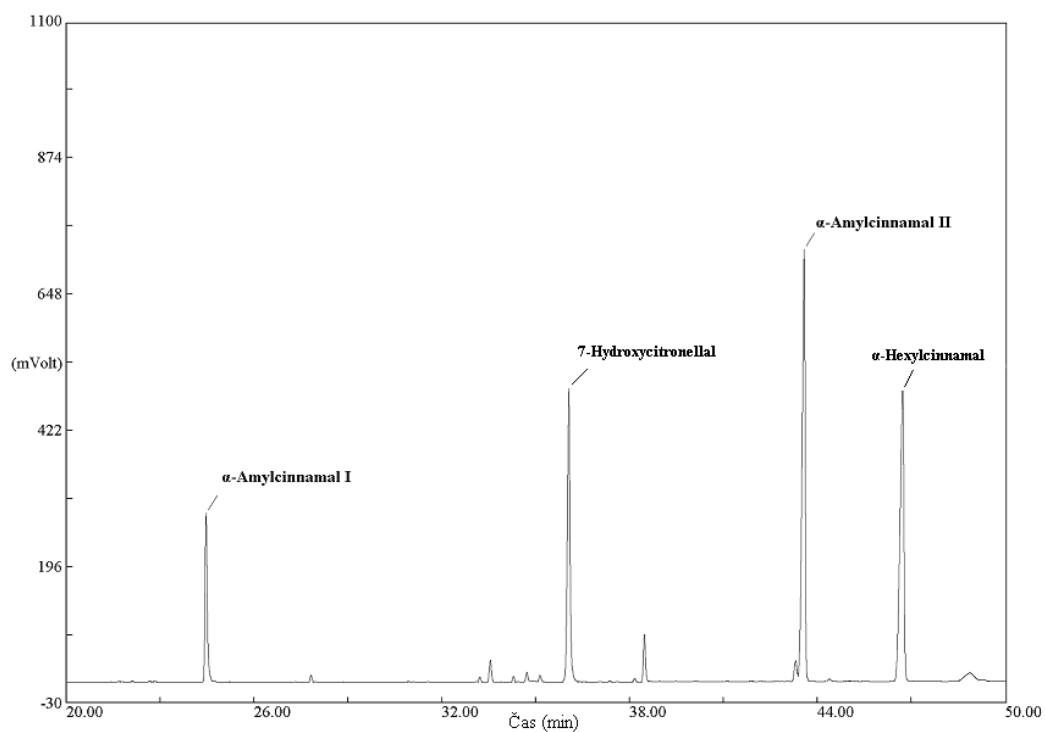
## **8 ZOZNAM PRÍLOH**

- I:** Chromatogram štandardov - zmes A
- II:** Chromatogram štandardov - zmes B
- III:** Chromatogram štandardu - Anízalkohol
- IV:** Chromatogram štandardov - zmes C
- V:** Chromatogram identifikovaných alergénnych vonných látok. Bon Pari
- VI:** Chromatogram identifikovaných alergénnych vonných látok. Dilmah Strawberry
- VII:** Chromatogram identifikovaných alergénnych vonných látok. Hamánek Čučoriedka
- VIII:** Chromatogram identifikovaných alergénnych vonných látok. Nestea Peach

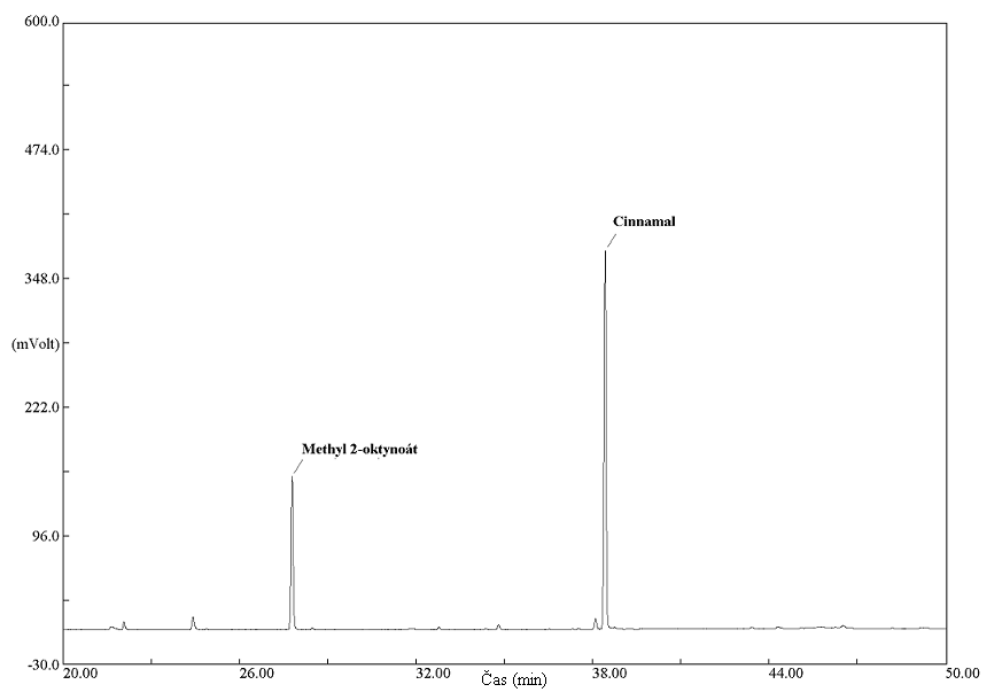


## 9 PRÍLOHY

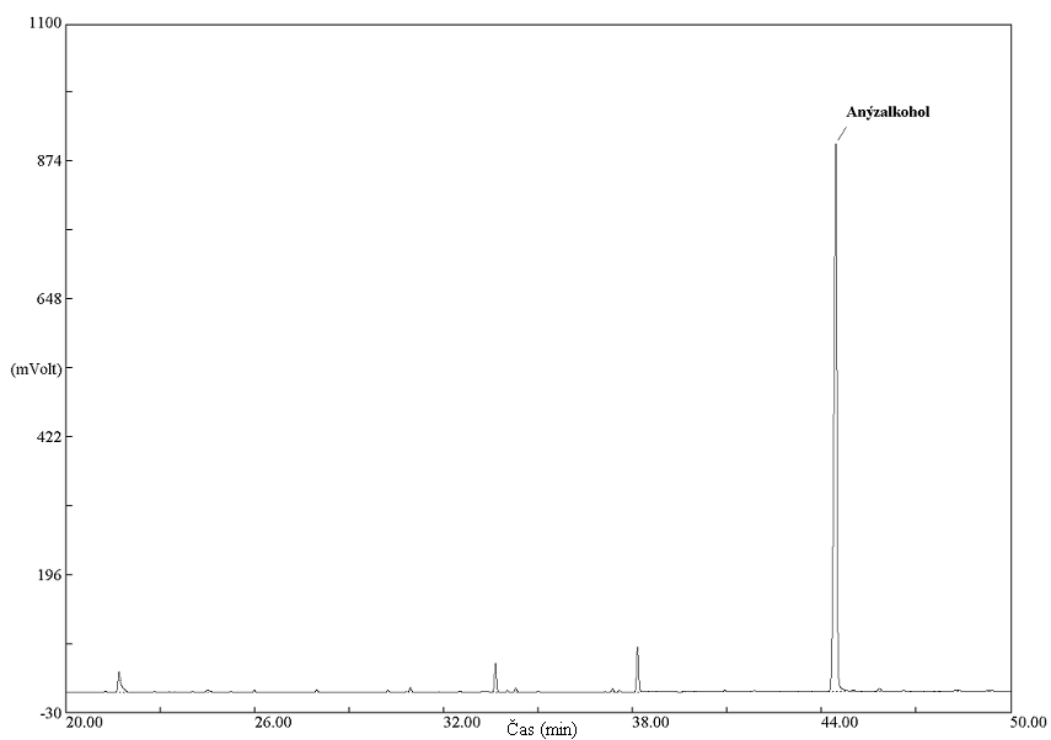
*Príloha I: Chromatogram štandardov - zmes A*



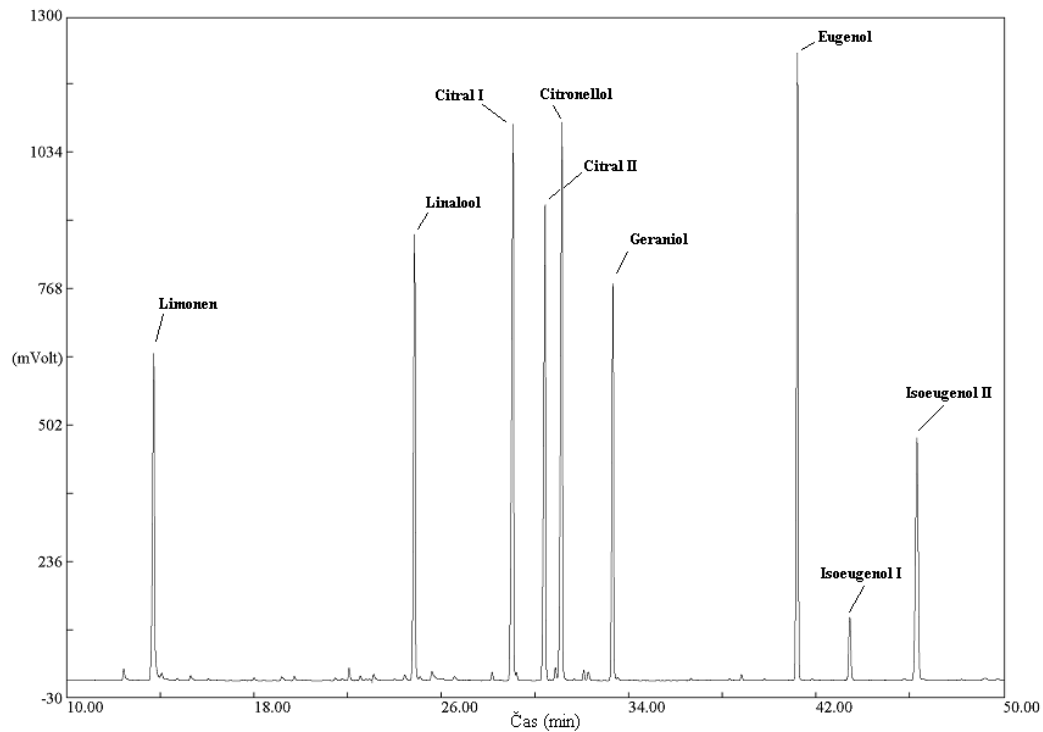
*Príloha II: Chromatogram štandardov - zmes B*



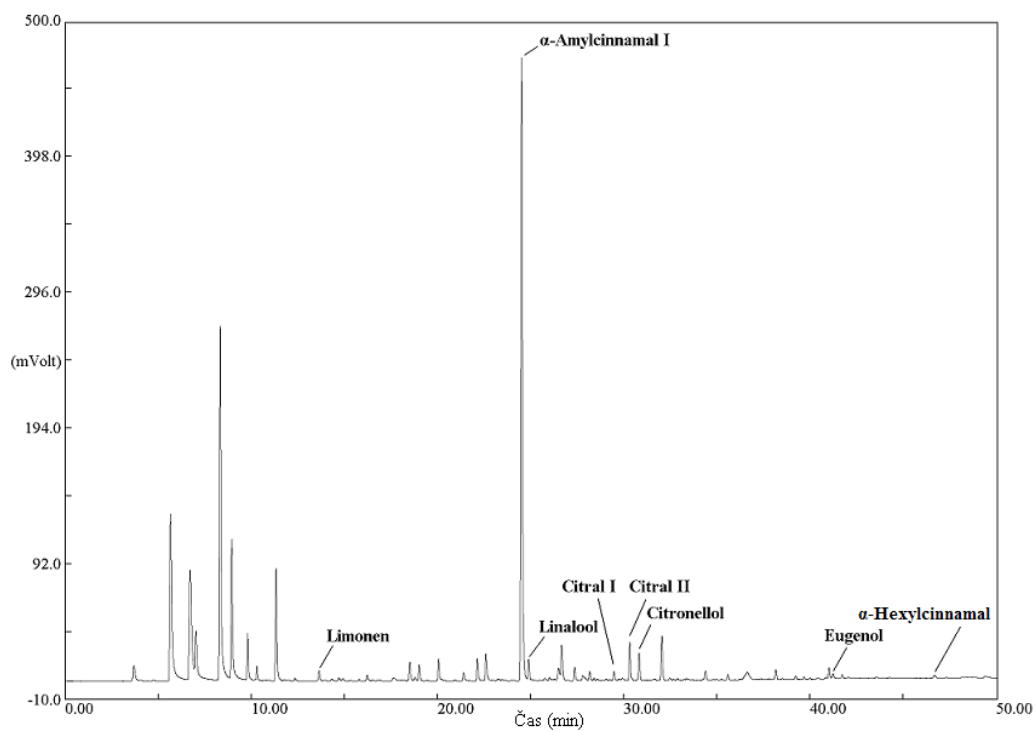
**Príloha III: Chromatogram štandardu - Anízalkohol**



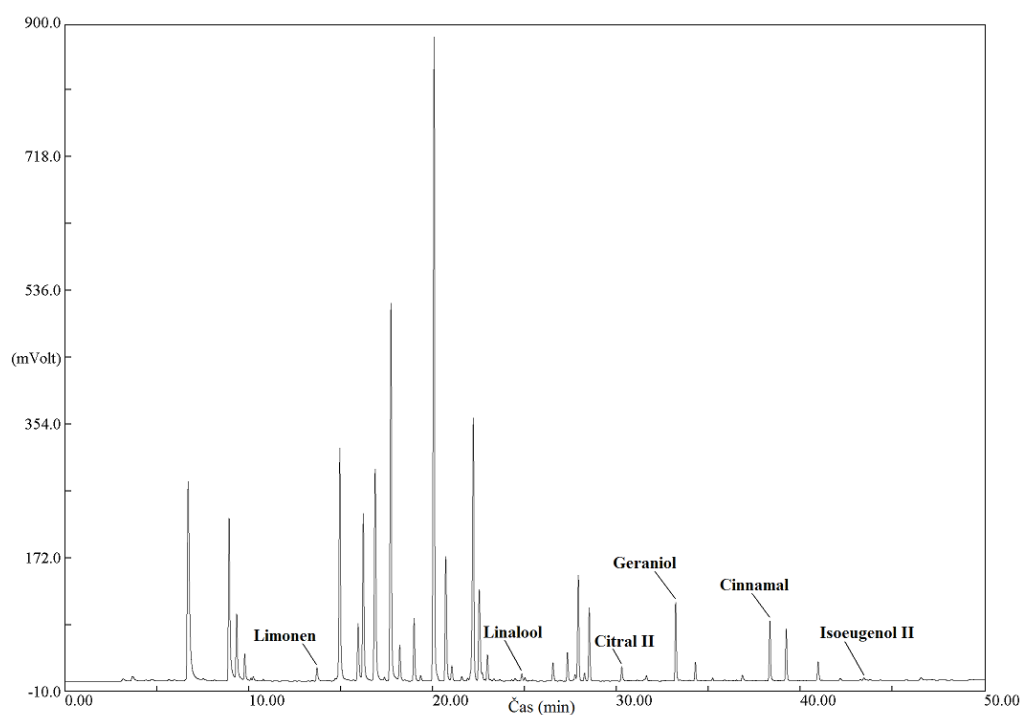
**Príloha IV: Chromatogram štandardov - zmes C**



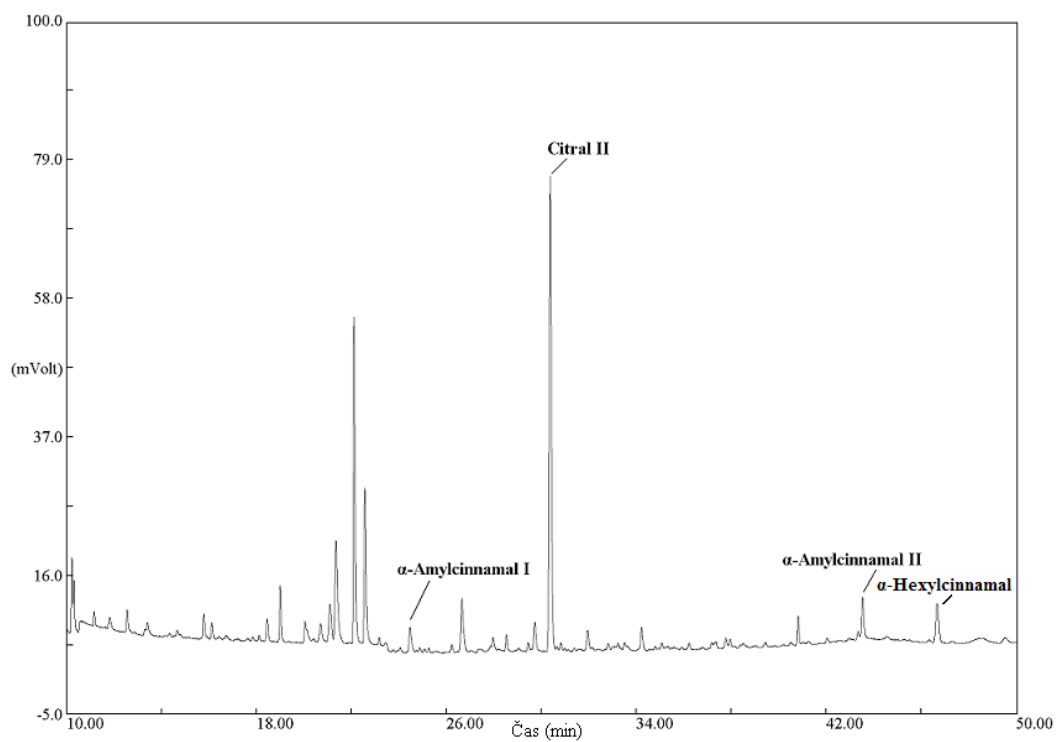
**Príloha V:** Chromatogram identifikovaných alergénnych vonných látok. Bon Pari



**Príloha VI:** Chromatogram identifikovaných alergénnych vonných látok. Dilmah Strawberry



**Príloha VII:** Chromatogram identifikovaných alergénnych vonných látok. Hamánek Čučoriedka



**Príloha VIII:** Chromatogram identifikovaných alergénnych vonných látok. Nestea Peach

